

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Herr Prof. Dr. med. P. Falkai

**Einfluss des Brain-derived neurotrophic factor
auf Schizophrenie und Gedächtnisleistungen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Inna Klein

aus Gornostajewka (Ukraine)

2013

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Matthias M. Weber

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 07.11.2013

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	7
2	Einleitung	9
2.1	Schizophrenie	9
2.1.1	Definition und Historisches	9
2.1.2	Symptomatik und Klassifikation	9
2.1.3	Verlauf und Prognose	12
2.1.4	Epidemiologie	14
2.1.5	Ätiopathogenese	15
2.1.5.1	Genetische Faktoren	16
2.1.5.2	Umweltfaktoren	19
2.1.5.3	Neuroanatomische Merkmale	21
2.1.5.4	Neurobiochemische Besonderheiten	24
2.2	Konzept der Endophänotypen	26
2.3	Gedächtnis	29
2.3.1	Definition	29
2.3.2	Zeitliche Unterteilung der Gedächtnissysteme	29
2.3.3	Inhaltliche Unterteilung der Gedächtnissysteme	31
2.3.4	Gedächtnisstörungen bei schizophrenen Patienten	31
2.4	Der Brain-Derived Neurotrophic Factor	33
2.4.1	BDNF und die Familie der Neurotrophine	33
2.4.2	Das BDNF-Gen	34
2.4.3	Funktion und Wirkung von BDNF im ZNS	35
2.4.4	Psychiatrische Erkrankungen in Zusammenhang mit dem BDNF	37
2.4.5	Der Val ⁶⁶ Met-Polymorphismus des BDNF-Gens	38

Inhaltsverzeichnis

2.4.6	Der Val ⁶⁶ Met-Polymorphismus in Bezug auf Kognition und Schizophrenie	40
3	Fragestellung	47
4	Material und Methoden	49
4.1	Rahmenbedingungen der Studie	49
4.2	Studienteilnehmer	49
4.2.1	Schizophrene Patienten	50
4.2.2	Kontrollprobanden.....	50
4.3	Neuropsychologisches Testverfahren.....	52
4.3.1	Der Wechsler Gedächtnistest	52
4.3.2	Durchführung der Testreihen	52
4.3.3	Auswertung des WMS-R.....	55
4.4	Labormethoden	57
4.4.1	DNA-Extraktion	57
4.4.2	Konzentrationsmessung der DNA.....	58
4.4.3	Genotypisierung mit dem iPLEX-Verfahren	60
4.4.3.1	Die konventionelle PCR.....	61
4.4.3.2	Dephosphorylierung mit SAP	62
4.4.3.3	Einzelbasenextensionsreaktion (iPLEX-Reaktion).....	63
4.4.3.4	Messung im MALDI-TOF Massenspektrometer	64
4.5	Statistische Auswertung.....	65
5	Ergebnisse	66
5.1	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie.....	66
5.1.1	Genotypverteilung.....	66
5.1.2	Allelverteilung.....	68
5.2	Endophänotypenstudie.....	68
5.2.1	Gedächtnisleistung und Genotypverteilung	68

Inhaltsverzeichnis

5.2.2	Gedächtnisleistung und Allelverteilung	71
6	Diskussion	73
6.1	Diskussion der Methoden	73
6.1.1	Ethnische Abstammung der Studienteilnehmer	73
6.1.2	Rekrutierungsverfahren und Einschlusskriterien	74
6.1.3	Testverfahren	76
6.2	Diskussion der Ergebnisse	77
6.2.1	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	77
6.2.2	Endophänotypenstudie	79
6.3	Funktionelle Konsequenzen des Val ⁶⁶ Met-Polymorphismus	84
6.4	Ausblick	85
7	Abkürzungsverzeichnis	87
8	Literaturverzeichnis	90
9	Eidesstattliche Versicherung	119
10	Danksagung	120

1 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine psychiatrische Erkrankung, die phänotypisch in vielgestaltigen Querschnittsbildern auftreten kann. Die Ätiopathogenese der Schizophrenie ist bis heute nicht geklärt. Es wird aber davon ausgegangen, dass sie einem polygenen Erbgang folgt und multifaktorielle Bedingungen zum Ausbruch der Krankheit führen.

Ein alternativer Ansatz versucht nun mithilfe von klar definierten Endophänotypen Gene zu identifizieren, die mit neuroanatomischen, neurophysiologischen oder biochemischen Korrelaten einer Erkrankung assoziiert sind. In Zusammenhang mit der Schizophrenie gehören Lern- und Gedächtnisfunktionen zu den häufig untersuchten Endophänotypen.

Das Gen für den Brain-Derived-Neurotrophic-Factor (BDNF) auf Chromosom 11 ist ein Neurotrophin, das im adulten ZNS protektiv und regenerativ auf Neuronen und Motoneuronen wirkt. BDNF wird stark im Hippocampus exprimiert, einer Hirnregion, die in Lern- und Gedächtnisfunktionen involviert ist. Es konnte gezeigt werden, dass BDNF in die hippocampalen Funktionen der Langzeitpotenzierung eingreift.

Unter Berücksichtigung der Omnipräsenz des BDNF im humanen Gehirn liegt auch die Vermutung nahe, dass veränderte Genexpression oder Funktionalität dieses Neurotrophins neuronale Krankheiten begünstigen oder bedingen können. In diesem Zusammenhang wird auch eine Assoziation von BDNF mit Schizophrenie diskutiert.

Ein im humanen BDNF-Gen häufig vorkommender Polymorphismus ist der SNP rs6265 an Position 196 der mRNA. Er bewirkt einen Aminosäureaustausch von Valin nach Methionin und wurde bereits intensiv in Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht.

Die vorliegende Studie untersuchte an 135 schizophrenen Patienten kaukasischer Abstammung und 313 gesunden Kontrollprobanden deutscher Abstammung, ob ein Zusammenhang zwischen dem rs6265 und Schizophrenie oder Gedächtnisleistungen nachzuweisen ist. Mit einer adaptierten deutschen Fassung der Welcher Memory Scale Revised (WMS-R) wurde bei allen Studienteilnehmern Gedächtnisleistungen erfasst.

Zusammenfassung

Anschließend erfolgten die Analysen der Allel- und Genotypfrequenzen sowie die Zuordnung zu den Ergebnissen aus den Gedächtnistests.

Im Ergebnis konnte in der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie keine signifikante Assoziation zwischen dem rs6265 und Schizophrenie festgestellt werden. Darüber hinaus konnte in der Endophänotypenstudie keine Assoziation zwischen rs6265 und Gedächtnisleistungen nachgewiesen werden. Ein Trend zeigte sich aber im Untertest „Verbales Gedächtnis“ des WMS-R. Dabei erzielten Met-Homozygote im Durchschnitt bessere Leistungen als Träger des Val-Allels.

Ob der rs6265 die Gedächtnisleistungen oder die Suszeptibilität für Schizophrenie beeinflusst, konnte mit dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden. Folgestudien mit strikten Ein- und Ausschlusskriterien und größeren Stichproben sind nötig, um diese Frage abschließend zu klären.

2 Einleitung

2.1 Schizophrenie

2.1.1 Definition und Historisches

Der Begriff Schizophrenie wurde von dem Psychiater Eugen Bleuler gebildet und erstmals Anfang des 20. Jahrhunderts veröffentlicht (Bleuler, 1911). "Schizo" kommt aus dem Griechischen und bedeutet "ich spalte", "Phren" entstammt ebenfalls dem Griechischen und heißt "der Geist". Bleuler wollte mit dieser Bezeichnung ausdrücken, dass bei den Erkrankten Denken, Fühlen und Wollen auseinanderfallen. Der von Bleuler geprägte Begriff bezog sich dabei auf die von Emil Kraepelin Ende des 19. Jahrhunderts klassifizierten endogenen Psychosen der Dementia praecox (Hebephrenie), Katatonie und Dementia paranoides (Kraepelin, 1896). Die von Kraepelin erstellte Klassifikation ist auch aktuell noch Grundlage der gültigen Klassifikationssysteme für psychiatrische Erkrankungen (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*, ICD-10; *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, DSM IV).

Heute wird Schizophrenie als eine über einen längeren Zeitraum auftretende endogene Psychose definiert, die durch charakteristische, symptomatisch oft sehr vielgestaltige psychopathologische Querschnittsbilder, wie Wahn, Halluzinationen, formale Denkstörungen, Ich-Störungen, Affektstörungen und psychomotorische Störungen in Erscheinung treten kann, ohne körperliche Ursachen zu haben. Erscheinungsbilder der Krankheit, die von kürzerer Dauer sind, werden als schizotype Störungen bezeichnet (Dilling et al., 2011).

2.1.2 Symptomatik und Klassifikation

Um der Diversität dieser psychiatrischen Erkrankung Rechnung zu tragen, gab es in der Vergangenheit verschiedene Modelle einer Klassifikation, die sich vornehmlich an der Symptomatik ausrichteten. Bleuler differenzierte die Schizophrenie dahingehend, dass er

Einleitung

die Krankheitsbilder wie stumpfe oder unangepasste Gemütsbewegungen, Ambivalenz, Autismus oder Assoziationsstörungen als der Krankheit innewohnend zu den Grundsymptomen zählte und Halluzinationen oder Wahn als akzessorische Symptome betrachtete. Den Ausbruch und den Verlauf der Schizophrenie hielt er für variabel (Bleuler, 1911). Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts differenzierte Kurt Schneider in Symptome ersten und Symptome zweiten Ranges. Zu den Symptomen ersten Ranges, die ein diagnostisches Kriterium der Schizophrenie darstellen sollten, gehörten unter anderem dialogische Stimmen, Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug und Wahnwahrnehmung (Schneider, 1950). Obgleich die Validität von Schneiders Modell der *First-Rank Symptoms (FSK)* in nachfolgenden Studien widerlegt wurde, so spielte es doch für die Entwicklung der heute gültigen Klassifikationssysteme eine bedeutende Rolle (Nordgaard et al., 2008).

Generell wird heutzutage bei den sehr heterogenen Symptomen der Schizophrenie zwischen positiven und negativen Symptomen unterschieden. Positive Symptome werden als Erweiterung des Verhaltensspektrums angesehen (wie z.B. Wahn, Halluzinationen oder Ich-Störungen). Die Fortdauer der Symptomatik, deren Ausprägung sowie der Einfluss auf die Betroffenen kann dabei stark variieren (Tandon et al., 2009). Verfolgungs- und Beziehungswahn erscheinen die am häufigsten auftretenden Positivsymptome zu sein (Möller et al., 2009). Daneben kann aber auch eine Vielzahl von anderen Symptomen bei Schizophrenie auftreten, deren spezifische Ausprägung in Zusammenhang mit der Persönlichkeit des Schizophrenen steht. Dazu gehören unter anderem akustische oder optische Halluzinationen und formale Denkstörungen mit Ausbreitung, Lautwerden und Eingebung von Gedanken.

Zu den negativen Symptomen zählen Beeinträchtigungen des Denkens, der Affektivität, des Antriebs und des Willens, sowie der Kommunikations- bzw. Kontaktfähigkeit. Dazu gehören unter anderem Störungen der Affektivität, wie zum Beispiel Gefühlsarmut, Parathymie, psychotische Ambivalenz oder Misstrauen. Darüber hinaus können Störungen des Willens und der Psychomotorik, wie Abulie, Apathie, Manierismus, Stupor, Mutismus und Katalepsie auftreten, ebenso wie Störungen des Trieb- und Sozialverhaltens. Zu letzterem zählen Kontaktmangel, Aggressionstendenz, Verwahrlosungstendenz und gesteigerte Erschöpfbarkeit (Crow, 1980; Andreasen, 1982; Carpenter et al., 1988).

Einleitung

Die Hauptscheinungsformen der Schizophrenie werden zur Differenzierung in Subtypen klassifiziert. Hierbei finden das ICD-10 (*International Classification of Diseases* der Weltgesundheitsorganisation WHO) und das DSM-IV (*Diagnostic- and Statistic Manual der American Psychiatric Assoziation APA*) Anwendung (Tabelle 1).

Tabelle 1: Klassifikation und diagnostische Kriterien schizophrener Erkrankungen nach DSM-IV und ICD-10 (Hautzinger und Thies, 2009)

DSM-IV: Schizophrenie	ICD-10: Schizophrenie (F 20)
<ul style="list-style-type: none">➤ paranoider Typus (295.30)➤ desorganisierter Typus (295.10)➤ katatoner Typus (295.20)➤ undifferenzierter Typus (295.90)➤ residualer Typus (295.60)	<ul style="list-style-type: none">➤ paranoide Schizophrenie (F 20.0)➤ hebephrene Schizophrenie (F 20.1)➤ katatone Schizophrenie (F 20.2)➤ undifferenzierte Schizophrenie (F 20.3)➤ postschizophrene Depression (F 20.4)➤ schizophrenes Residuum (F 20.5)➤ Schizophrenia Simplex (F 20.6)

Die Diagnose der Schizophrenie erfolgt auf Grundlage eines sorgfältig erhobenen psychopathologischen Befundes (systematisierte Symptomatik) unter Anwendung entsprechender diagnostischer Leitlinien und Algorithmen der Klassifikationssysteme (ICD-10 oder DSM-IV). Wichtige Vorbedingungen bei der Diagnostik sind darüber hinaus die Durchführung von Laboruntersuchungen und eine apparative Diagnostik zum Ausschluss von körperlich begründbaren Psychosen. Dabei ist für eine eindeutige Diagnose eine mindestens 4-wöchige Symptomatik analog ICD-10 einzuhalten oder kontinuierliche Anzeichen der Symptome über einen Zeitraum von mindestens 6 Monaten gemäß DSM-IV. In Studien zur Häufigkeit des Auftretens von psychopathologischen Symptomen wurde festgestellt, dass mehrere Symptome in einer akuten Phase gleichzeitig auftreten können.

Die Arbeitsgruppe Schizophrenieforschung des Zentralinstituts für Seelische Gesundheit, Mannheim, unter Leitung von Heinz Häfner, dokumentierte die diagnostizierten Symptome bei der Erstaufnahme von 276 schizophrenen Patienten, sowie in einem *Follow-up* im Mittel nach 12,3 Jahren von 107 Patienten dieser Gruppe (Tabelle 2). Die

Einleitung

Symptomdimensionen umfassten psychotische, negative, depressive und manische Syndrome.

Tabelle 2: Klinische Merkmale bei Erstaufnahme und beim Langzeit *Follow-up*, 12,3 Jahre in % (nach Häfner, 2010)

	ABC-Kohorte	
	Erstaufnahme %	Follow-up %
Soziale Behinderung	57,9	19,6
Wahn, Halluzinationen	95,3	15,9
Sprache, Verhalten	95,3	51,4
Affektverminderung	29,5	5,6
Alogie / Paralogie	17,1	2,8
Abulie / Apathie	39,4	23,6
Anhedonie	37,9	16,3
Aufmerksamkeit	29,8	9,9

2.1.3 Verlauf und Prognose

Wurde bei einem Patienten Schizophrenie gemäß ICD-10 oder DSM-IV diagnostiziert, so ist anzunehmen, dass dieser bereits in der Vergangenheit Merkmale aufwies, die mit dem späteren Ausbruch in Zusammenhang standen.

So gehen neuere Studien davon aus, dass sich der Verlauf der Schizophrenie in vier Phasen unterteilt (Tandon et al., 2009). Langzeitstudien von Risikogruppen ergaben, dass bereits in der Kindheit, der prämorbid Phase, emotionale und kognitive Probleme auftreten, einhergehend mit Beeinträchtigungen in der geistigen und sozialen Entwicklung. Neben einer Verspätung der motorischen Entwicklung wurden auch Aufmerksamkeitsstörungen, soziale Isolation, wenig ausgeprägte Lernbereitschaft, sowie Sprachdefizite dokumentiert (Schenkel und Silverstein, 2004).

Einleitung

In der Jugend und im frühen Erwachsenenstadium, der Prodromal-Phase, wurde beobachtet, dass unterschwellige psychotische Symptome auftreten einhergehend mit Stimmungsschwankungen, kognitiven Defiziten und einer Abnahme der Leistungsfähigkeit (Cornblatt et al., 1999). Die Prodromal-Phase kann von wenigen Monaten bis hin zu mehreren Jahren dauern, wobei ein Durchschnittswert von fünf Jahren ermittelt wurde (Hafner und an der Heiden, 1999; Klosterkötter et al., 2008).

Der Ausbruch der Schizophrenie erfolgt in der psychotischen Phase zumeist in einem Alter von 15 bis 45 Jahren (Gross, 1997; Hafner et al., 1998). Dieser Zustand kann sich sowohl durch akute psychotische Symptome, mit florider Positivsymptomatik, manifestieren, als auch durch einen schleichenden Prozess (Beiser et al., 1993; Hafner et al., 1998). Es wurde beobachtet, dass dabei eine weitere Ausprägung der psychotischen Symptome stattfand, die bereits in der Prodromal-Phase in schwächerer Form auftraten (Iyer et al., 2008). Begünstigend für den Ausbruch wirken sich neben dem Konsum von Drogen auch Lebensumstände aus, die bei den betroffenen Personen starken Stress auslösten (Corcoran et al., 2003; Phillips et al., 2006).

Für etwa 16% bleibt es zeitlebens bei einer psychotischen Phase (Shepherd et al., 1989). Die überwiegende Mehrzahl der Patienten tritt danach jedoch in die dauerhafte Phase ein, deren weiterer Verlauf wiederum sehr inhomogen ausfallen kann (Modestin et al., 2003; Thara, 2004). Mehrheitlich kommt es zu unterschiedlich stark ausgeprägten Krankheitsschüben gefolgt von Remissionen (Andreasen et al., 2005; Haro et al., 2008) in deren weiteren Verlauf es zu Residualzuständen mit chronischer Symptomatik kommen kann (Rössler et al., 2010).

In der dauerhaften Phase treten oftmals Negativsymptome in den Vordergrund, mit fortwährenden kognitiven Defiziten und Stimmungsschwankungen. Das Ausmaß dieser Residualzustände kann sehr differenziert ausgeprägt sein (Tandon et al., 2009). Bei etwa 30% der schizophrenen Patienten bleibt eine dauerhafte Negativsymptomatik erhalten, wobei bei Männern der Abbau der Negativsymptome nach der psychotischen Phase deutlich langsamer erfolgt als bei Frauen (Häfner, 2010) (Abbildung 1).

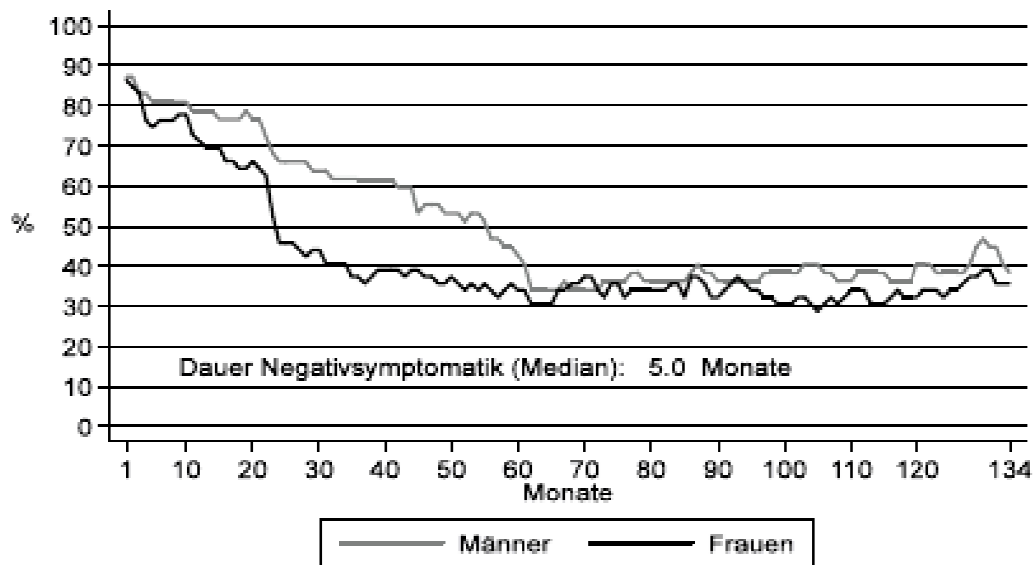


Abbildung 1: Negativsymptomatik: Monatsprävalenzen über 134 Monate nach stationärer Erstaufnahme – getrennt nach Geschlecht (Häfner, 2010)

Mit welchen Folgen im weiteren Krankheitsverlauf zu rechnen ist zeigt sich auch an der durchschnittlich um 15 bis 20 Jahre verkürzten Lebenserwartung von schizophrenen Patienten im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (Parks et al., 2006; Auquier et al., 2007). Die höhere Sterblichkeitsrate ist dabei zum größten Teil auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen zurückzuführen. Aber auch Suizid, mit etwa 25 Prozent, und ein erhöhtes Unfallrisiko (circa 10%) kennzeichnen die gesteigerte Mortalität.

Eine Prognose über den Krankheitsverlauf oder die Chancen zur kompletten Remission ist von daher im Einzelfall bislang kaum zu geben.

2.1.4 Epidemiologie

Schizophrene Psychosen sind ein weltweites Phänomen. Sie betreffen alle Kulturen und sozialen Gruppierungen (Saha et al., 2006). Die Lebenszeitprävalenz liegt durchschnittlich bei 0,7% (Saha et al., 2005). Projiziert man diese Zahl auf die Weltbevölkerung, so werden von momentan 7 Milliarden Menschen etwa 49 Millionen innerhalb ihres Lebens an

Einleitung

Schizophrenie erkranken. Die *World Health Organization* berichtet 2011 von 24 Millionen Menschen, die weltweit von Schizophrenie betroffen sind (WHO, 2011). Die jährliche Inzidenzrate wurde in einer Meta-Analyse, die 55 Studien aus 33 Ländern berücksichtigte und im Zeitraum von 1965 bis 2001 veröffentlicht wurden, mit durchschnittlich 0,015% ermittelt (McGrath et al., 2004). Geschlechterspezifisch sind im Erkrankungsrisiko nur marginale Unterschiede zu erkennen. Neueren Studien zufolge ist das Risiko an Schizophrenie zu erkranken für Männer 1,4 mal grösser als bei Frauen (Aleman et al., 2003). Jedoch liegt das durchschnittliche Prädektionsalter bei Männern mit 21 Jahren fünf Jahre früher als bei Frauen (Möller et al., 2009). In diesem Zusammenhang konnten In-Vivo- und In-Vitro-Studien nachweisen, dass Östrogen mit seinem neuroprotektiven Effekt Einfluss auf die Neurotransmittersysteme nimmt, die in der Pathogenese der Schizophrenie involviert sind (Kulkarni et al., 2012).

Zu den Gruppen, die ein deutlicheres Erkrankungsrisiko haben, zählen neben Migranten (Faktor 2,7) und deren Nachkommen (Faktor 4,5) auch Menschen die in Städten leben (Faktor 2 – 3) (Dohrenwend et al., 1992; Lewis et al., 1992; Mortensen et al., 1999; Boydell et al., 2001; Pedersen und Mortensen, 2001; Cantor-Graae und Selten, 2005; Cooper et al., 2008). Für beide Personengruppen wird diskutiert, dass sozio-ökonomische Faktoren bei der Entwicklung der Schizophrenie eine Rolle spielen.

2.1.5 Ätiopathogenese

Trotz intensiver Bemühungen, die Entstehung dieser häufigen Erkrankung zu untersuchen, sind die Umstände, die zu einer Schizophrenie führen können, immer noch ungeklärt. Heute wird angenommen, dass das Zusammenwirken von genetischen Faktoren und Umweltfaktoren zur Manifestation führen kann. So können bestimmte genetische Prädispositionen dazu führen, dass eine Person anfälliger für die Erkrankung wird. Überschreiten dann noch belastende Umstände (Geburtskomplikationen, bestimmte Infektionen, Cannabisabusus, starke psychische Belastung) eine bestimmte Schwelle, so kann diese vulnerable Person eine Schizophrenie entwickeln (Sawa und Snyder, 2006).

Einleitung

2.1.5.1 Genetische Faktoren

Ein starker genetischer Einfluss auf die Ätiopathogenese der Schizophrenie gilt heute als unbestritten. Die Heritabilität der Schizophrenie wird derzeit auf etwa 60-80% geschätzt (Lencz et al., 2007). Bereits Anfang des 20-ten Jahrhunderts konnte Ernst Rüdin in einer Studie nachweisen, dass das Morbiditätsrisiko bei Geschwistern von Schizophrenen um 7,7% höher war als bei denjenigen, die keine schizophrene Erkrankung in der Familie hatten (Rüdin, 1916). In der Folge wurden weitere, zahlreiche Familienstudien durchgeführt die die Ergebnisse von Rüdin bestätigten und darüber hinaus die Erkenntnis brachten, dass das Morbiditätsrisiko einhergehend mit dem Grad der Verwandtschaft steigt (Kendler et al., 1993; Schosser et al., 2006) (Abbildung 2).

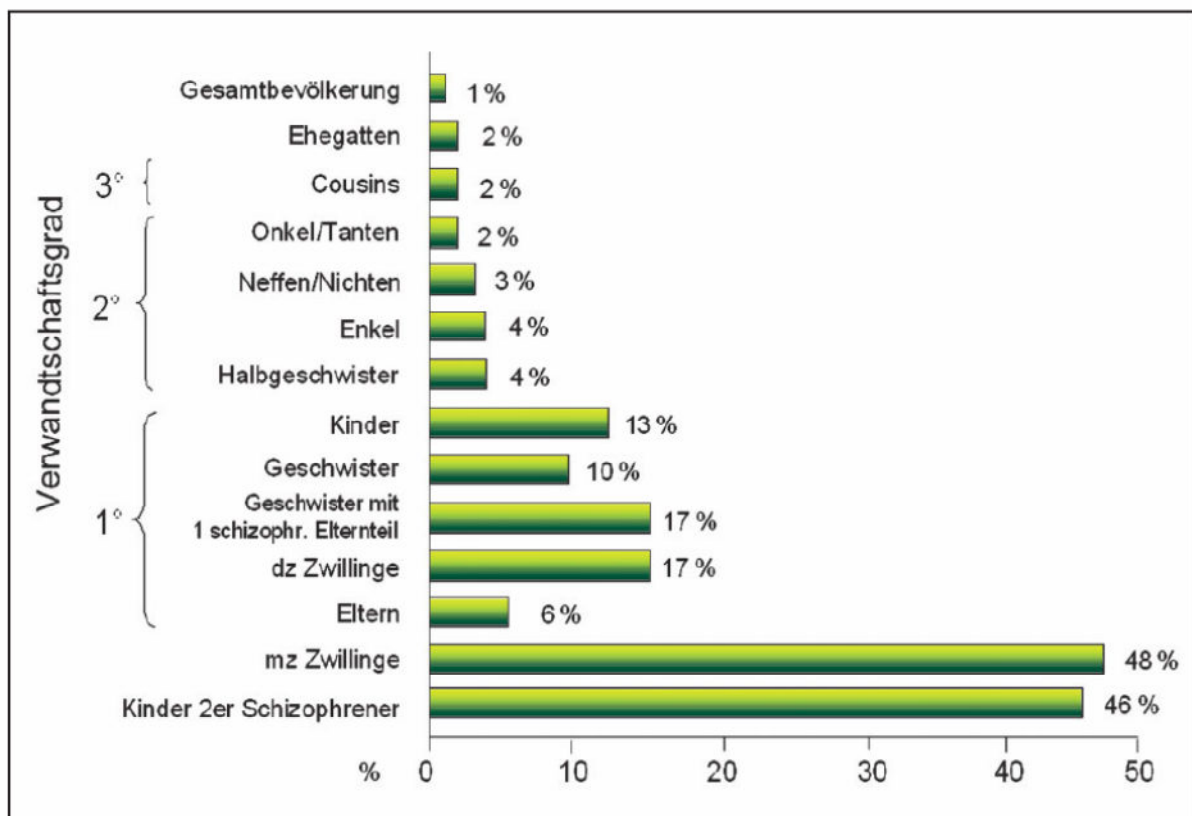


Abbildung 2: Lebenslanges Risiko für Schizophrenie in Prozent (Schosser et al., 2006)

Um Einflüsse, die den Ausbruch von Schizophrenie innerhalb des elterlichen Umfeldes während der Kindheit und Jugend begünstigen könnten auszuschließen, wurden Adoptionsstudien durchgeführt. Dabei wurden Säuglinge oder Kleinkinder, die einen betroffenen Elternteil hatten, von einer Familie ohne Erkrankungshistorie adoptiert und

Einleitung

umgekehrt Säuglinge oder Kleinkinder, die keine schizophrenen Auffälligkeiten in der Familie hatten, von einer Familie adoptiert wo mindestens ein Elternteil erkrankt war (Heston, 1966; Kety et al., 1968). Die Ergebnisse bestätigten, dass nur die Abstammung ein erhöhtes Morbiditätsrisiko birgt und nicht das familiäre Umfeld.

In einem weiteren Untersuchungsansatz, den Zwillingsstudien, zeigte sich, dass die Konkordanzrate für Schizophrenie bei eineiigen Zwillingen dreimal höher war als bei zweieiigen Zwillingen (Gottesman et al., 1987; Sullivan et al., 2003). Eineiige Zwillinge haben annähernd zu 100% das gleiche Genmaterial, wobei zweieiige Zwillinge, genauso wie Geschwister, nur eine 50%-ige Übereinstimmung aufweisen. Aus dieser unvollständigen Konkordanz bei eineiigen Zwillingen wird aber auch die Bedeutung der Umweltfaktoren deutlich. Wäre die Schizophrenie rein genetisch determiniert, dann müssten die genetisch annähernd identischen monozygoten Zwillinge eine Konkordanz von 100 % aufweisen.

Mit den Möglichkeiten der molekularbiologischen Forschung wird seit mehr als zwanzig Jahren versucht die Genorte (Loci) zu identifizieren, die für die Entstehung der Schizophrenie verantwortlich sind. Anfang des vergangenen Jahrzehnts wurden die Ergebnisse von Kopplungsstudien in zwei Meta-Analysen untersucht. Beide Analysen benannten die Chromosomalregionen 8p21 – 22 und 22q11 – 12 als mögliche Genregionen, die einen Einfluss auf die Entstehung der Krankheit haben könnten (Badner und Gershon, 2002; Lewis et al., 2003). Kopplungsstudien suchen dabei bei Familienmitgliedern im Genom nach gleichen Merkmalen auf den Chromosomen (Markern), die bei Schizophrenen auftreten jedoch nicht bei den gesunden Probanden. Weitere Kopplungsstudien und Meta-Analysen benannten jedoch andere Loci oder konnten die bisher erzielten Ergebnisse nicht replizieren (Owen et al., 2004; Williams et al., 2006; Ng et al., 2008; Sullivan et al., 2008). Als Schwachstellen der Kopplungsstudien erscheinen allerdings die genetische Heterogenität der Probanden, sowie die Möglichkeit, dass verschiedene, unabhängige Risikogene die Vulnerabilität beeinflussen können (Sawa und Snyder, 2002; Fanous und Kendler, 2005).

Eine andere Methodik zur Identifizierung von Suszeptibilitätsgenen sind genetische Assoziationsstudien. Dabei werden DNA-Sequenzen oder das komplette Genom

Einleitung

(Genomweite Assoziationsstudien) zwischen Trägern eines Phänotyps (Krankheit oder bestimmtes Merkmal) und gesunden Kontrollprobanden verglichen - insbesondere auf die Quantität von Genvariationen. Dabei erweisen sich Einzelnukleotidpolymorphismen (*Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs*) aufgrund ihrer Häufigkeit im Genom und ihrer biallelischen Eigenschaften als besonders geeignet. Eine Homogenität in der Abstammung der Studiengruppen ist Voraussetzung, um falsch-positive Ergebnisse durch Populationsstratifikation zu vermeiden. Ergibt die Untersuchung dabei bei den Trägern des Phänotyps eine signifikante, quantitative Erhöhung der spezifischen Marker, spricht man von einer Assoziation (Camp und Cox, 2002). In den vergangenen Jahren haben genomweite Assoziationsstudien (GWAS) bestimmter Phänotypen eine immer größere Bedeutung gewonnen. So wurden allein im Zeitraum von Januar bis Juni 2011 951 GWAS veröffentlicht (National Human Genome Research Institute, 2011).

In Bezug auf Schizophrenie wurden beim *Zink Finger Protein 804A (ZNF804A)* auf Lokus 2q32.1 (O'Donovan et al., 2008; Zhang et al., 2011), sowie dem *Major Histocompatibility Complex (MHC)* auf 6p21.3-22.1, dem *Neurogranin Gen (NRGN)* auf 11q24.2 und dem *Transcription Factor 4 (TCF4)* auf Lokus 18q21.2 (Stefansson et al., 2009) Assoziationen abgeleitet. Brzustowicz et al. wiesen in einem genomweiten Scan mit 22 Familien, die von Schizophrenie stark betroffen waren, eine Assoziation mit dem *RGS4 Gen* auf dem Chromosom 1 (1q21-q22) nach (Brzustowicz et al., 2000).

Auch die Ludwig-Maximilian-Universität untersuchte bereits den Bezug von RGS4 auf Schizophrenie. Dabei kamen zwei verschiedene Studien zu unterschiedlichen Ergebnissen. Während Davodyfar keine Assoziation ableiten konnte, fand Konnert signifikante Assoziationen zur Schizophrenie bei den RGS4-Polymorphismen rs951436, rs951439 und rs2063142 (Davodyfar, 2006; Konnert, 2010). Auch beim *Dysbindin Gen (DTNBP1)*, 6p22.3, konnte eine Assoziation zu Schizophrenie nachgewiesen werden (Benson et al., 2001). Gleiches gilt für das *Catechol-O-Methyltransferase Gen (COMT)*, in der Region 22q.11, das in das dopaminerge System involviert ist (Bray et al., 2003). Und auch der *Brain-Derived-Neurotrophic-Factor (BDNF)*, ebenfalls auf Chromosom 11, ist ein Kandidat für ein Suszeptibilitäts-gen.

Einleitung

Insgesamt ist die Befundlage aber noch als inkonsistent zu bewerten. Replikationen der Ergebnisse, wie zum Beispiel beim MHC auf Chromosom 6 durch Shi et al., gelingen selten (Shi et al., 2011).

2.1.5.2 Umweltfaktoren

Neben der genetischen Grundlage wird nach aktuellem Erkenntnisstand von einer multifaktoriellen Entstehung der Schizophrenie ausgegangen. Dabei bedingen auch zerebrale Schäden sowie psychosoziale Faktoren die Vulnerabilität der Schizophrenie. In neueren Konzepten wird von mehrstufigen Modellen ausgegangen, die in der prämorbidem Entwicklung prädisponierende Faktoren (genetische Disposition, perinatale Schädigungen, psychosoziale Faktoren) und auslösende Faktoren (Lebensereignisse) zeigen.

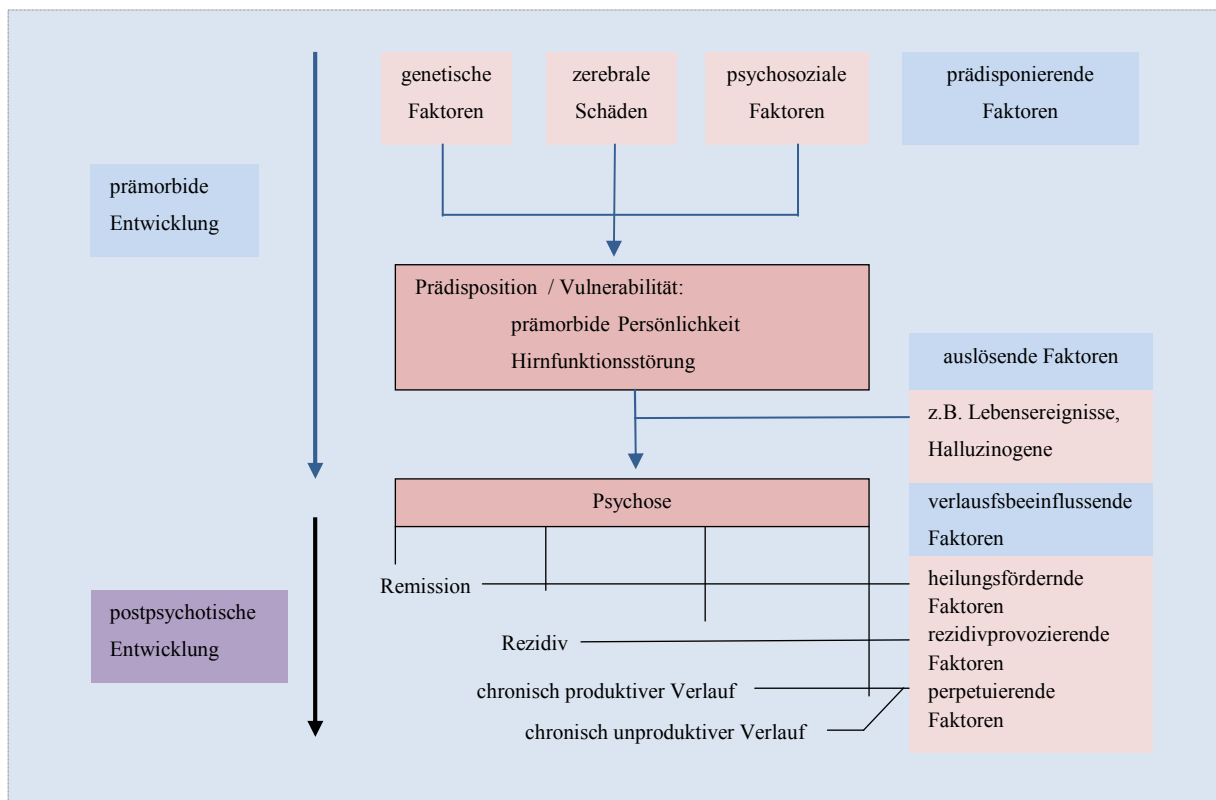


Abbildung 3: Multifaktorielle Ätiopathogenese der Schizophrenie (Möller et al., 2009).

Einleitung

Die postpsychotische Entwicklung wird demnach von verlaufsbeeinflussenden, heilungsfördernden, rezidivprovozierenden und perpetuierenden Faktoren beeinflusst (Abbildung 3).

So wurde festgestellt, dass in der pränatalen Phase sowohl Infektionen (z.B. Influenza) wie auch Ernährungsdefizite bei der Mutter ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bei dem Kind bewirken können (Penner und Brown, 2007; Meyer et al., 2007). Da die Schizophrenie als Störung der Neuroentwicklung gilt, scheint es nur folgerichtig, dass Erkrankungen, die die Neuroentwicklung stören, auch bei Schizophrenen gehäuft zu finden sind. Infektionen, die das Zentrale Nervensystem betreffen, sind in diesem Zusammenhang von übergeordnetem Interesse. Es wurde in einer Studie nachgewiesen, dass Nachkommen von Müttern mit einem erhöhten IgG- und IgM-Immunglobulingehalt und Antikörpern gegen den Herpes simplex Virus Typ 2 ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Schizophrenie und anderen psychotischen Krankheiten im Erwachsenenalter haben (Buka et al., 2001). Dickerson und Mitarbeiter konnten zeigen, dass sich bei schizophrenen Patienten mit einer diagnostizierten Zytomegalie eine Therapie mit Valacyclovir positiv auf die Schizophrenie auswirkt. Darüber hinaus konnten sie eine Assoziation des Herpes simplex Virus Typ 1 mit kognitiven Fehlfunktionen bei Schizophrenen ableiten (Dickerson et al., 2003). Auch die Infektionskrankheit Toxoplasmose und Infektionen mit dem Herpes simplex Virus Typ 6 stehen im Verdacht, bei der Ätiopathogenese der Schizophrenie eine Rolle zu spielen (Leweke et al., 2004). Darüber hinaus wurden Faktoren in der Kindheit und Jugend nachgewiesen, die das Risiko der Schizophrenie erhöhen. Dazu gehören unter anderem Infektionen (Dalman et al., 2008), wie auch Kopfverletzungen (David und Prince, 2005) aber auch soziale Faktoren wie inadäquate Erziehung (Tienari et al., 2004) oder Tod, beziehungsweise Verlust eines Elternteils (Morgan et al., 2006). Die Einnahme von Drogen in der Jugend wird ebenso mit einer gesteigerten Vulnerabilität diskutiert. In mehreren Studien wurde nachgewiesen, dass der Konsum von Cannabis den Ausbruch von Schizophrenie in Risikogruppen um 2 bis 9% erhöhen kann (Semple et al., 2005).

Dass das soziale Umfeld einen Einfluss auf die Vulnerabilität der Schizophrenie hat, wurde bereits vor über 70 Jahren vermutet. So stellten Faris und Dunham in einer Untersuchung in Chicago fest, dass Schizophrenie häufiger bei Personen vorkam, die im Stadtbereich wohnten, als bei denen aus den Randbezirken (Faris und Dunham, 1939). Neuere Studien

Einleitung

konnten die Urbanizitäts-Theorie festigen und einen Zusammenhang zwischen der Geburt und dem Aufwachsen in Städten und einem erhöhten Risiko an Schizophrenie zu erkranken ableiten (Mortensen et al., 1999; Kirkbride et al., 2006). In Metaanalysen wurde zwar immer wieder bestätigt, dass eine urbane Umgebung das Schizophrenierisiko erhöht, aber die Kausalität, die zu diesem Ergebnis führt, ist weiterhin unklar. In Fachkreisen werden diesbezüglich zwei Hypothesen diskutiert:

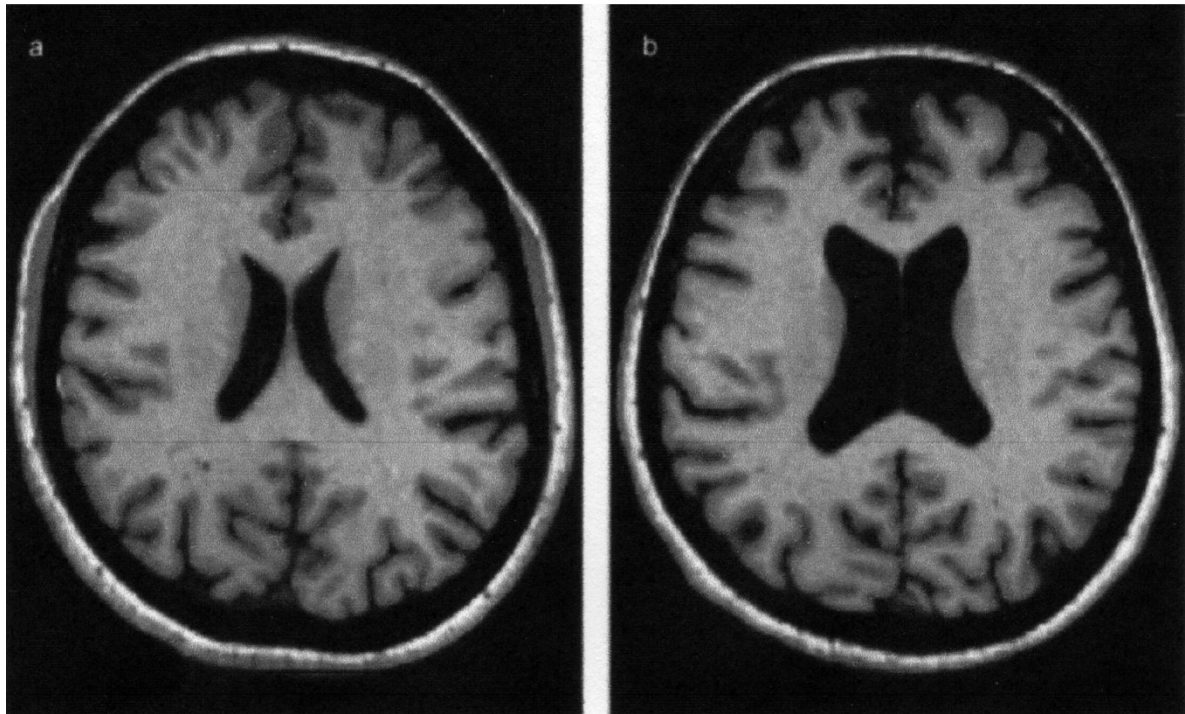
- eine städtische Abstammung wirkt sich mit ihren Einflüssen direkt auf die Suszeptibilität für Schizophrenie aus (*breeder hypothesis*)
- Schizophrene bevorzugen generell ein Leben in der Stadt (erleichtert die Anonymität) (*selection hypothesis*)

(Tandon et al., 2008)

Ebenfalls in den dreißiger Jahren des vergangenen Jahrhunderts stellte Odegaard fest, dass bei norwegischen Migranten Schizophrenie häufiger vorkam, als bei den Norwegern, die in ihrer Heimat verblieben (Odegaard, 1932). Mehrere Studien bestätigten den Zusammenhang von Migration und einem erhöhten Risiko für Schizophrenie (Cantor-Graae und Selten, 2005). Es ist aber nicht davon auszugehen, dass Migration an sich das Risiko erhöht, sondern die sozialen Rahmenbedingungen wie zum Beispiel Isolation, Diskriminierung oder sozialer Abstieg, die oftmals mit Migration einhergehen (Cooper et al., 2008). Eine eindeutige Verbindung zwischen der Bedeutung der Umweltfaktoren und der Entstehung, dem Erscheinungsbild und dem Verlauf der Schizophrenie konnte aber bisher nicht erbracht werden.

2.1.5.3 Neuroanatomische Merkmale

Hirnstrukturelle Veränderungen bei Schizophrenie werden seit langem beobachtet. Mit Hilfe von modernen, bildgebenden Techniken, wie der Magnetresonanztomographie und der Voxel-basierten Morphometrie, konnte gezeigt werden, dass das gesamte Gehirnvolumen und die graue Substanz verringert ist und die Hirnventrikel vergrößert sind (Steen et al., 2006; Keshavan et al., 2008; Olabi et al., 2011) (Abbildung 4).



Normalbefund

Ventrikelerweiterung bei einem schizophrenen Patienten

Abbildung 4: Strukturelle Abnormitäten bei Schizophrenie im CT (Möller et al., 2009)

Dass diese neuroanatomischen Merkmale nicht als statischer Zustand manifestiert sind, sondern sich im Krankheitsverlauf weiter entwickeln, zeigten Meisenzahl und Mitarbeiter in einer Studie mit 92 Patienten mit Major Depression (MD), 89 Patienten mit Schizophrenie (SZ) und 138 gesunden Kontrollprobanden (HC). Aus der Gruppe der Patienten wurden Subgruppen gebildet, die sich zum einen in ihrer ersten psychotischen Phase befanden (F-SZ, n=45), zum anderen schizophrene Patienten mit einem rezidivierenden Verlauf waren (R-SZ, n=44). Es wurden neben den Gesamtvolumina des linken (HK left) und des rechten Hippocampus (HK right) auch die Volumina der grauen Substanz des linken (HK GM left) und des rechten Hippocampus (HK GM right) gemessen. Die Messungen zeigen eine signifikante Reduzierung der gemessenen Volumina bei den Patienten mit der ersten psychotischen Phase im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden, die sich bei Patienten mit rezidivierendem Verlauf sogar noch verstärkt (Abbildung 5). Ob oder inwieweit die Einnahme von Medikamenten diese Entwicklung beeinflusst, konnte allerdings bislang nicht beantwortet werden. Es wird aber angenommen,

Einleitung

dass Haloperidol, ein in der Behandlung von Schizophrenie eingesetztes Neuroleptikum, einen signifikanten Einfluss auf die Reduzierung der grauen Substanz hat (Liebermann et al., 2005).

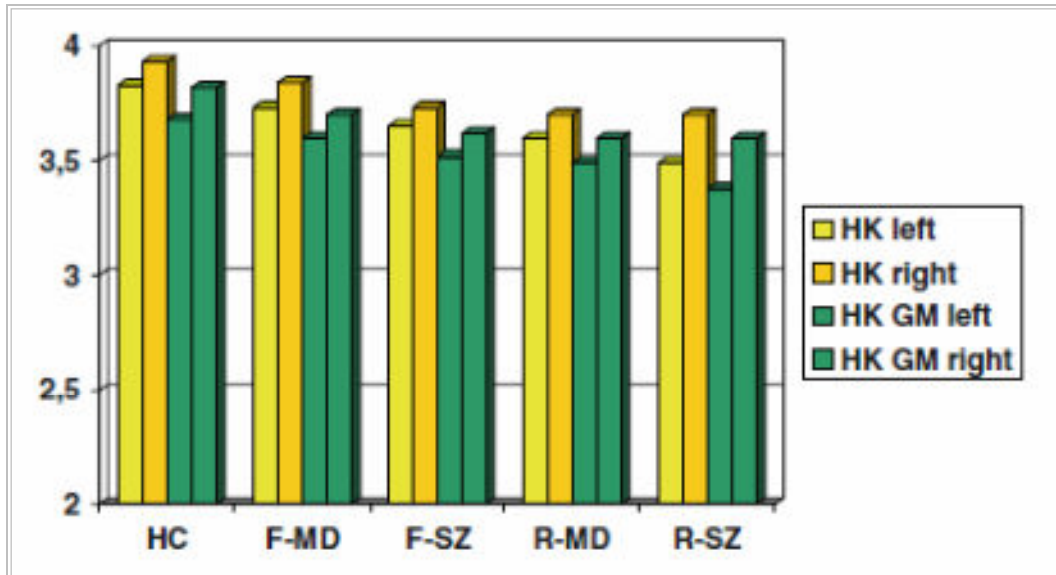


Abbildung 5: Hippocampale Messungen des gesamten Hippocampusvolumens (HK) und des Volumens der grauen Substanz des linken und rechten Hippocampus in den Subgruppen von Ersterkrankungen und rezidiven Patienten. HC = Healthy Controls, F-MD = First episode of Major Depression, F-SZ = First episode of Schizophrenia, R-MD = Recurrent depressive episodes, R-SZ = Recurrent schizophrenic disorder (Meisenzahl et al., 2010).

In einer Meta-Analyse, die 52 Studien mit insgesamt 1424 *First-Episode* Patienten und 1315 gesunden Kontrollprobanden zusammenfasste und somit medikamentöse Effekte nahezu ausschloss, konnte gezeigt werden, dass das gesamte Gehirnvolumen der schizophrenen Patienten durchschnittlich um 2,7% geringer war als das der Kontrollen. Die negativen Abweichungen des Hippocampus lagen bei etwa 8% auf beiden Seiten (Steen et al., 2006). Andere Studien zeigten auch geringfügig reduzierte Volumina bei der Amygdala, dem Gyrus temporalis superior (STG) (Lawrie und Abukmeil, 1998; Nelson et al., 1998), dem präfrontalen Cortex und dem Thalamus (Konick und Friedmann, 2001), dem anterior cingulate Cortex (Baiano et al., 2007) und des Corpus callosum (Woodruff et al., 1995). Reduzierungen von Strukturen der weißen Substanz, wie das Corpus callosum,

Einleitung

scheinen mit den kognitiven Störungen zu korrelieren (Kubicki et al., 2007), die im Krankheitsbild der Schizophrenie beobachtet werden.

Darüber hinaus wird davon ausgegangen, dass die Heritabilität der neuroanatomischen Merkmale sehr hoch ist. Bei Personen, die mit einem hohen, familiären Krankheitsrisiko behaftet sind konnten ebenfalls Abnormitäten in der Gehirnstruktur nachgewiesen werden (Job et al., 2003; Boos et al., 2006).

2.1.5.4 Neurobiochemische Besonderheiten

In der Schizophrenieforschung wird vor allem den Neurotransmittersystemen des Dopamins, des Serotonins und des Glutamats Bedeutung zugewiesen.

Die Dopaminhypothese basiert auf dem Nachweis, dass bei schizophrenen Patienten in der akuten Phase therapeutisch eingesetzte Neuroleptika Dopamin-D2-Rezeptoren blockieren und die Positivsymptome reduzieren (Reynolds, 2005). Dopaminagonisten, wie zum Beispiel Amphetamine, können jedoch schizoaffektive Symptome hervorrufen (Baumeister et al., 2002). Von daher wurde bei der Dopaminhypothese davon ausgegangen, dass eine Überaktivität dopaminergischer Neuronen bei schizophrenen Patienten vorliegt (Carlsson et al., 1963). Um die Negativsymptomatik der Schizophrenie zu erklären, wurde zunächst angenommen, dass in diesen Fällen eine dopaminerge Unterfunktion in frontalen Strukturen (Hypofrontalität) dafür verantwortlich ist. Es wird aber auch diskutiert, dass die Überproduktion von Dopamin negative Auswirkungen auf die Funktion von anderen Neurotransmittersystemen hat, insbesondere auf GABAerge und glutamaterge Neuronen (Reynolds, 2005).

Neben dem Dopamin könnte das Serotonin eine wichtige Rolle bei der Vulnerabilität der Schizophrenie spielen. Bei der Serotoninhypothese wurde zunächst beobachtet, dass das Halluzinogen LSD (Lysergsäurediethylamid) Zustände bei Probanden hervorruft, die einer Positivsymptomatik bei schizophrenen Patienten ähnelt. Da LSD eine ähnliche chemische Struktur wie Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) hat und agonistisch an D2-Rezeptoren

Einleitung

des dopaminergen Systems wirkt, wie auch als Partialagonist an die 5-HT_{2A}-Rezeptoren des serotonergen Systems bindet, wurde angenommen dass bei Schizophrenen das serotonerge System betroffen sein könnte (Wooley und Shaw, 1954). Bei weiteren Forschungen konnte nachgewiesen werden, dass LSD die psychotischen Symptome durch seine agonistische Wirkung am 5-HT_{2A}-Rezeptor verursacht (Glennon et al., 1984). Postmortem-Untersuchungen bei Schizophrenen zeigten eine reduzierte Dichte der 5-HT_{2A}-Rezeptoren im Gewebe des Parahippocampus (Burnet et al., 1996), sowie im Striatum und Subiculum (Scarr et al., 2004). Die Auswirkungen einer veränderten Dichte von 5-HT_{2A}-Rezeptoren im Hippocampus konnten bislang nicht analysiert werden, aber es erscheint evident, dass das serotonerge System in Interaktion mit dem Dopamin bei der Pathogenese der Schizophrenie beachtet werden muss.

Eine große Bedeutung in der Ätiopathogenese der Schizophrenie wird auch dem glutamatergen System zugewiesen. Glutamat ist im neuronalen System als erregender Neurotransmitter omnipräsent und bindet an ionotrope und metabotrope Rezeptoren. Zu der Gruppe der ionotropen Rezeptoren gehört unter anderem der N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptor. Der NMDA-Rezeptor ist essentiell bei der Hirnentwicklung, sowie bei Lern- und Gedächtnisprozessen. Durch Blockade der NMDA-Rezeptoren durch die Antagonisten Ketamin oder Phencyclidin, konnten bei gesunden Probanden Zustände ausgelöst werden, die schizophrenen Psychosen sehr ähnlich sind (Krystal et al., 1994; Javitt et al., 2004). Auch konnte festgestellt werden, dass hohe subanästhetische Dosen von Ketamin zu einer Dopaminfreisetzung im Striatum bei gesunden Probanden führten (Smith et al., 1998). In diesem Zusammenhang wird die Ketaminstimulation als pharmakologisches Modell für das bei schizophrenen Störungen vermutete glutamaterge Defizit betrachtet (Goff und Coyle, 2001).

In Subsummierung der Untersuchungsergebnisse zu den verschiedenen Neurotransmittersystemen, geht die Wissenschaft heute allerdings davon aus, dass bei Schizophrenie mehrere Neurotransmittersysteme in die Ätiopathogenese involviert sind. Denkbar wäre zum Beispiel, dass es bei der Krankheit zu einem gestörten Gleichgewicht der einzelnen Neurotransmitter untereinander kommt.

2.2 Konzept der Endophänotypen

Trotz der durch zahlreiche Studien belegten genetischen Determination der Schizophrenie konnte die wissenschaftliche Forschung bisher keine eindeutige Identifizierung von Suszeptibilitätsgenen nachweisen. So wird angenommen, dass die Schizophrenie eine polygene Erkrankung ist, also mehrere Gene in unterschiedlicher Ausprägung und auf diversen Loci impliziert, die im Zusammenwirken mit Umweltfaktoren zu ihrem jeweiligen Erkrankungsphänotyp führt (Harrison und Weinberger, 2005). Braff et al. beziffern dabei den genetischen Einfluss an Schizophrenie zu erkranken mit 50 – 80% (Braff et al., 2007).

Das Konzept der Endophänotypen versucht nun die Genorte zu lokalisieren, die in Zusammenhang mit dem Ausbruch der Krankheit stehen. Unter Berücksichtigung, dass jede Störung multifaktoriell bedingt ist und die beitragenden Ursachenfaktoren trotz gleicher Diagnosen von Patient zu Patient variieren können, wird angenommen, dass psychische Störungen nicht nur neurobiologische Korrelate aufweisen, sondern neurobiologisch bedingt, bzw. verursacht sind (Zobel und Maier, 2004). Im Konzept der Endophänotypen (Abbildung 6) werden krankheitsspezifische psychische Störungen oder Merkmale charakterisiert und eine Assoziation mit genetischen Veränderungen untersucht.

Endophänotypen werden als neuroanatomische, neurophysiologische, biochemische oder neuropsychologische Eigenschaften definiert, die mit einer Erkrankung assoziiert, ständig vorhanden und vererbbar sind (Gottesman und Gould, 2003). Auch die zuverlässige und quantitative Messbarkeit von Endophänotypen sowie deren Assoziation zu einer bestimmten Erkrankung sollte gegeben sein (Chan & Gottesman, 2008). Darüber hinaus wird diskutiert, dass Endophänotypen durch genetische Polymorphismen verursacht werden könnten und andere nichtgenetische Einflüsse, wie zum Beispiel Umweltfaktoren, Kopfverletzungen, Medikamente oder Drogen die Entstehung dieser Endophänotypen beeinflussen könnten (Braff et al., 2007).

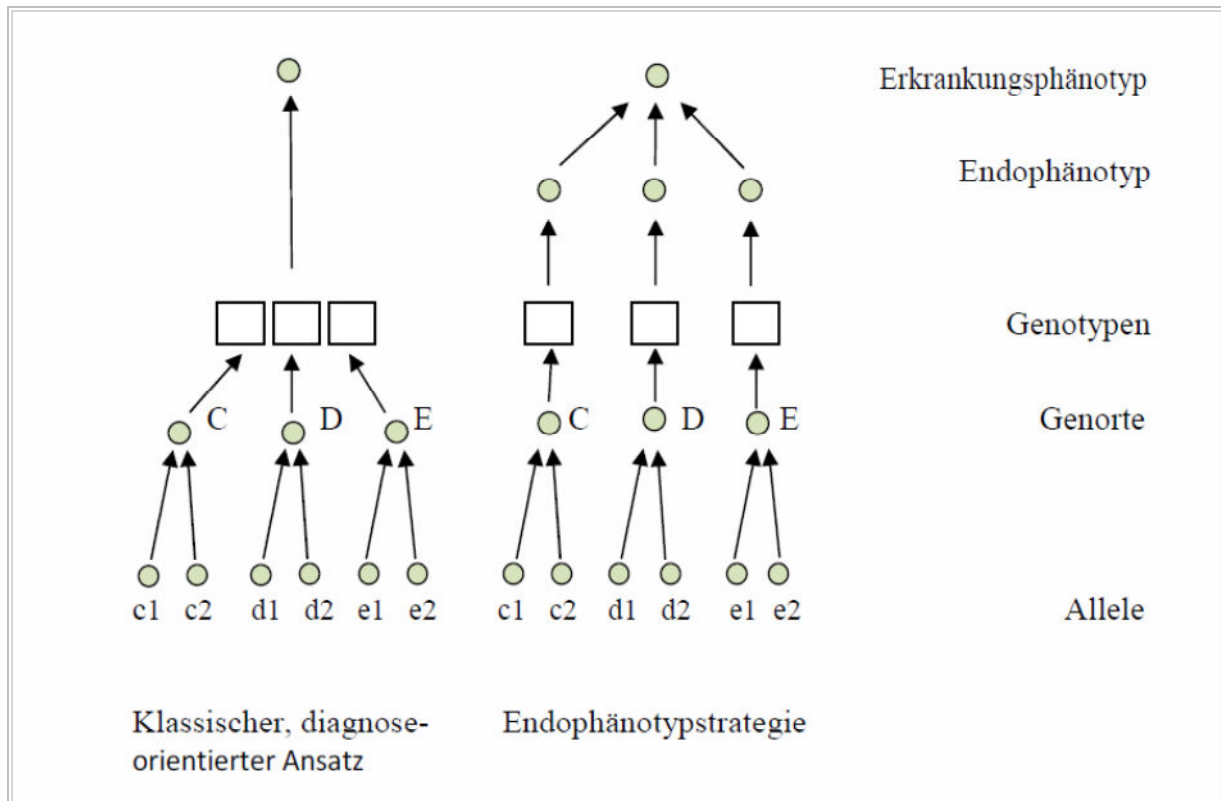


Abbildung 6: alternative Modelle für Phänotyp-Genotyp-Beziehungen (Zobel und Maier, 2004.)

Der erste Schritt Endophänotypen zu evaluieren, ist Merkmale oder Defizite zu klassifizieren, die bei schizophrenen Patienten und deren Angehörigen im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung überproportional vorkommen und damit genetisch ableitbar sind (Faraone et al., 1995/1; Faraone et al., 1995/2).

Bei den neuroanatomischen Abweichungen, die mit Hilfe von funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT) dargestellt werden konnten, wird eine mögliche Schlüsselrolle einer Fehlfunktion im Bereich des dorsolateralen Präfrontalcortex (DLPFC) diskutiert (Weinberger et al., 2001). Der DLPFC ist sehr engmaschig über neuronale Netzwerke mit anderen Hirnregionen verbunden und von daher von großer Bedeutung für die Funktionsfähigkeit der neuronalen Prozesse (Friston, 1998; Meyer-Lindenberg et al., 2005). Auch die mit dem DLPFC vernetzten Regionen des Hippocampus und des Striatums werden als putative Endophänotypen in Betracht gezogen (Meyer-Lindenberg und Weinberger, 2006).

Einleitung

Zu den neurophysiologischen Merkmalen, die als Endophänotyp der Schizophrenie klassifiziert werden können zählt die *Prepulse Inhibition* (Präpulsinhibierung einer Schreckreaktion, PPI). Die PPI ist die Bahnung der elektrophysiologischen Reaktion auf einen akustischen Reiz durch einen Vorreiz. Bei schizophrenen Patienten wurde beobachtet, dass der Vorreiz nicht zu einer Abflachung der elektrophysiologischen Reaktion auf einen Reiz führte (Freedman et al., 1999; Braff et al. 2001, Kumari et al. 2005).

Auch die veränderte, langsame Augenfolgebewegung, die sowohl bei schizophrenen Patienten, als auch bei deren Verwandten im Verhältnis zur Normalbevölkerung überproportional vorkommt, kann als Endophänotyp eingeordnet werden (Holzman et al., 1984; Holzman et al., 1988; Zobel und Maier, 2004).

Das wohl am häufigsten dokumentierte neuropsychiatrische Merkmal bei schizophrenen Patienten ist eine Störung des deklarativen, beziehungsweise episodischen Gedächtnisses (Cirillo und Seidman, 2003). Es wurde nachgewiesen, dass es bei Schizophrenen zu funktionellen Normabweichungen bei der Aufnahme, dem Speichern und dem Abruf von kontextgebundenem Gedächtnismaterial, wie zum Beispiel Wortassoziationen, kommt (Saykin et al., 1991; Aleman et al., 1999). Zu den Kernmerkmalen der Schizophrenie zählen auch Störungen im Arbeitsgedächtnis (Goldman-Rakic, 2001; Gur et al., 2007). Patienten und Risikopersonen zeigten Normabweichungen beim Behalten räumlicher oder verbaler Informationen zum Zweck der kurzfristigen Verarbeitung (Franke et al., 1992; Friedman und Squires-Wheeler, 1994).

Obwohl die Validität der Ergebnisse aus den kognitiven Tests in Schizophreniestudien auch durchaus kritisch betrachtet wird (Ernst et al., 2001; Allen et al., 2003; Kremen et al., 2004), so werden doch folgende kognitive Fähigkeiten als potentielle Endophänotypen diskutiert (Green et al. 2004, Nuechterlein et al. 2004, Buchanan et al. 2005):

- Aufmerksamkeit
- Arbeitsgedächtnis
- verbales Lernen und Gedächtnis
- visuelles Lernen und Gedächtnis

Einleitung

- Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit
- schlussfolgerndes Denken und Problemlösung
- soziale Kognition

Neben der Erforschung der genetischen Ursache von Krankheitsbildern, könnte das Endophänotypkonzept zukünftig auch Einfluss auf die Diagnostik nehmen, indem falsch-positive Diagnosen durch das Fehlen des spezifischen Endophänotyps auffallen würden. Im Umkehrschluss könnten falsch-negative Diagnosen bei Vorhandensein des spezifischen Endophänotyps in Frage gestellt werden.

2.3 Gedächtnis

2.3.1 Definition

Gedächtnisleistung bezeichnet die Fähigkeit des Gehirns, Lernstoffe, Eindrücke, Erlebnisse und Erfahrungen zu ordnen und zu speichern, sowie die gespeicherten Informationen zu einem späteren Zeitpunkt zu reproduzieren. Grundsätzlich wird das Gedächtnis nach Art der Informationsverarbeitung, sowie der zeitlichen Klassifikation der gespeicherten Inhalte unterteilt. Das Gedächtnis ist ein zentraler Baustein der menschlichen Kognition, die die mentalen Prozesse und Strukturen gestaltet (Markowitsch, 2009).

2.3.2 Zeitliche Unterteilung der Gedächtnissysteme

Der Mensch nimmt zu jeder Zeit, bewusst oder unbewusst, über die Sinnesorgane eine Vielzahl von Reizen auf. Nach dem Multispeichermodell (Abbildung 7) fließen diese zunächst in das sensorische Register (auch Ultrakurzzeitgedächtnis). Hier werden alle Sinnesreize kurzfristig (Millisekunden bis Sekunden) gespeichert um sie für die Verarbeitung bereit zu halten. Erfolgt eine Weiterverarbeitung so werden die Reize in

Einleitung

Informationseinheiten, sogenannte *chunks*, gebündelt und an das Arbeitsgedächtnis weitergeleitet. Werden die Reize nicht weiter bearbeitet, so verfallen sie innerhalb kürzester Zeit (Markowitsch, 2009).

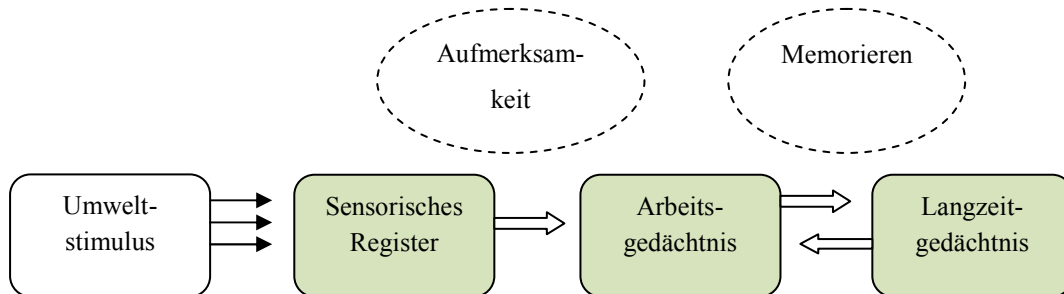


Abbildung 7: Multispeichersmodell (modifiziert nach Atkinson und Shiffrin, 1968)

Die bewusste Weiterverarbeitung der Informationen erfolgt im Arbeitsgedächtnis (auch Kurzzeitgedächtnis). Hier können innerhalb einer Zeitspanne von einigen Minuten etwa sieben +/- zwei *chunks* gespeichert und bearbeitet werden (Miller, 1956), was bedeutet, dass das Speichervolumen sehr begrenzt ist. Daneben können im Arbeitsgedächtnis neue Informationen mit alten Informationen aus dem Langzeitgedächtnis abgeglichen und verknüpft werden. Es wird angenommen, dass das Arbeitsgedächtnis aus einer Steuerungseinheit (zentrale Exekutive) besteht, die auf drei Subeinheiten - die phonologische Schleife, den visuell-räumlichen Notizblock und den episodischen Puffer – zugreifen kann (Baddeley et al., 2001). Das Langzeitgedächtnis schließlich ist für die dauerhafte Speicherung von Informationsbündeln zuständig.

Die Aufnahme aus dem Arbeitsgedächtnis in das Langzeitgedächtnis erfolgt durch Neuordnung, Gruppierung und Wiederholung. Die vorhandene Kapazität zur Speicherung ist dabei nahezu unerschöpflich. Jedoch können im Langzeitgedächtnis Informationen auch vertieft, verloren oder verändert werden. Ein häufiger oder vermehrter Abruf von Informationen aus dem Langzeitgedächtnis in das Arbeitsgedächtnis kann zum einen zu einer Vertiefung (Re-Enkodierung) der Inhalte führen, zum anderen aber auch durch den Vergleich mit neuen Informationen zu einer Abänderung der gespeicherten Inhalte beitragen (Markowitsch, 2009).

2.3.3 Inhaltliche Unterteilung der Gedächtnissysteme

Neben der zeitlichen Unterteilung steht die inhaltliche Klassifizierung des Gedächtnisses im Vordergrund der wissenschaftlichen Untersuchungen. Dabei wird die Informationsspeicherung einem deklarativen (expliziten) und einem nicht-deklarativen (impliziten) Gedächtnis zugeordnet (Squire und Zola-Morgan, 1991).

Das deklarative Gedächtnis beinhaltet

- das episodische Gedächtnis (persönliche Ereignisse und Erlebnisse)
- und das semantische Gedächtnis (erworbene Fakten)

Das nicht-deklarative Gedächtnis beinhaltet

- das Ausführungswissen (prozedurales Gedächtnis)
- die Bahnung (Priming)
- das assoziative Gedächtnis (klassische und operante Konditionierung)
- und das nicht-assoziative Gedächtnis (Habituation und Sensitivierung)

Diese Unterteilung hat keine hierarchische Ordnung, sondern existiert gleichberechtigt nebeneinander. Das beinhaltet auch die gleichzeitige Entnahme von gespeicherten Informationen aus verschiedenen Bereichen, um zum Beispiel komplexe Aufgaben zu lösen (Squire und Zola-Morgan, 1991; Squire und Knowlton, 1995).

2.3.4 Gedächtnisstörungen bei schizophrenen Patienten

Bei der Untersuchung und Therapie von schizophrenen Patienten wurde festgestellt, dass häufig Störungen im Gedächtnissystem mit der Krankheit korrelieren (Goldberg et al., 1989; Goldman-Rakic, 1994; Elissalde et al., 2011). Seit Ende des vergangenen Jahrhunderts wurden zahlreiche Untersuchungen diesbezüglich durchgeführt. Goldberg et al. stellten in einer Testreihe fest, dass schizophrene Patienten signifikante Störungen unter anderem im verbalen und visuellen Gedächtnis aufwiesen (Goldberg et al., 1993). Auch wird angenommen, dass Defizite vorwiegend im semantischen und periodischen

Einleitung

Gedächtnis vorkommen, prozedurale Lernfunktionen von der Krankheit jedoch nicht betroffen sind (Allen et al., 1993). Dabei ist davon auszugehen, dass die Dauer beziehungsweise das Stadium der Erkrankung keine Rolle spielt, da Versuche mit Patienten nach der ersten Episode ihrer Erkrankung Gedächtnisstörungen bereits bestätigten (Bilder et al., 2000). Dieses Ergebnis wurde in einer zusammenfassenden Analyse von 10 Langzeitstudien zu Gedächtnisleistungen von schizophrenen Patienten manifestiert (Kurtz, 2005). Auch die Behandlung mit typischen Neuroleptika hat keinen Einfluss auf die defizitären Gedächtnisleistungen (Kurtz, 2005). Störungen im Gedächtnissystem sind jedoch nicht spezifisch für die Schizophrenie. Das konnte in einer Meta-Analyse mit einer großen Anzahl von Patienten nachgewiesen werden (Heinrichs und Zakzanis, 1998). Ein Jahr später konnte in einer weiteren Meta-Analyse zu Studien von Gedächtnisleistungen mit mehr als 3000 schizophrenen Patienten bestätigt werden, dass die Patienten signifikante Gedächtnisstörungen aufwiesen, die zudem unabhängig von Alter, Medikation, Dauer der Erkrankung, Schwere der Psychopathologie oder der Positiv-Symptomatik waren (Aleman et al., 1999). Holthausen und Mitarbeiter stellten in einer Studie mit 118 *First-Episode* Patienten fest, dass die verbalen Gedächtnisleistungen stärker betroffen sind als die visuellen. Sie vermuten einen starken Einfluss der Schizophrenie auf die zentrale Exekutive dahingehend, dass eine reduzierte Koordination, Organisation und Prozessgeschwindigkeit von Informationen für die Defizite in dem Langzeitgedächtnis bei schizophrenen Personen verantwortlich ist (Holthausen et al., 2003).

In einem Versuch mit 251 schizophrenen Patienten und 206 gesunden Kontrollprobanden konnten Zhang und Kollegen erst kürzlich eine Assoziation zwischen BDNF und dem Kurzzeitgedächtnis ableiten. Die Ergebnisse der Untersuchung basierten auf der Testreihe *Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status (RBANS)* und der Analyse der BDNF Level im Serum der Teilnehmer. Dabei zeigte sich, dass die BDNF Level bei den schizophrenen Patienten signifikant niedriger waren, als bei den gesunden Kontrollen (Zhang et al., 2012).

Wie stark kognitive Störungen mit der Schizophrenie korrelieren, zeigten Palmer et al. 1997 in einer Fall-Kontroll-Studie. Bei 73% der schizophrenen Patienten wurden die kognitiven Funktionen als pathologisch eingestuft, im Vergleich zu 5% bei den Kontrollprobanden (Palmer et al., 1997).

Für die Betroffenen können diese Defizite weitreichende Folgen haben. Einhergehend mit einem Leistungsabfall auf der Arbeit folgt oftmals ein sozialer Rückzug der letztendlich die gesamte Gesellschaft belastet (Green, 1996; Green et al., 2000).

2.4 Der Brain-Derived Neurotrophic Factor

2.4.1 BDNF und die Familie der Neurotrophine

Der *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) gehört zusammen mit dem *Nerve Growth Factor*, sowie den Neurotrophinen 3, 4 und 5 (NT-3, NT-4/5) in die Familie der neurotrophen Faktoren (Neurotrophine). Neurotrophine sind basische, in ihrer Struktur ähnliche Proteine, die in der pränatalen Phase für das Überleben, das Wachstum und die Differenzierung von Neuronen sorgen, sowie für deren neuronale Plastizität (Lewin und Barde, 1996). Neurotrophine werden jeweils zielgerichtet in den Gehirnregionen gebildet, in denen sie für das Wachstum von bestimmten Nervenfasern benötigt werden. So findet sich BDNF während der neuronalen Entwicklungsphase weit verbreitet im zentralen Nervensystem und wirkt auf Zellen des zentralen und peripheren Nervensystems (Barde, 1990; Enfors et al., 1990; Wetmore et al., 1994). Im Gehirn von adulten Säugetieren konnte BDNF im Cerebralen Cortex, im Hippocampus, im Hirnstamm, im basalen Vorderhirn, im Striatum, im Hypothalamus und im Cerebellum nachgewiesen werden (Murer et al., 2001; Bramham und Messaoudi, 2005).

Alle Neurotrophine haben einen ähnlichen Aufbau. Ihre Aminosäuresequenzen sind zu über 50 Prozent identisch. Neurotrophe Faktoren besitzen konservierte Domänen, in denen sich jeweils sechs Cysteinreste befinden, die durch Sulfidbrücken verbunden sind (Acklin et al., 1993; Lewin und Barde, 1996). Als Vorläuferproteine werden sie synthetisiert, prozessiert und schließlich als reife Proteine sezerniert (Lewin und Barde, 1996). Nach der Synthese im Soma des Neurons werden Neurotrophine und Tyrosinrezeptorkinasen in Granula des Golgi-Apparates in postsynaptische Dendriten transportiert. Synthese und Transport der Neurotrophine scheinen dabei abhängig von der synaptischen Aktivität zu sein. Sezernierte Neurotrophine binden an Tyrosinkinaserzeptoren und aktivieren diese in der prä- oder

Einleitung

postsynaptischen Membran. Dadurch kann unter anderem die Neurotransmitterfreisetzung aus der Präsynapse moduliert werden. Die Neurotrophin-Tyrosinkinase-Rezeptor-Komplexe können durch Endozytose wieder in die Dendriten aufgenommen werden. Alternativ können Vesikel, die bereits die Neurotrophin-Tyrosinkinase-Rezeptor-Komplexe enthalten an die Synapse transportiert und wieder entfernt werden. Diese Form des Transports ermöglicht längerfristige Modulation der Neurotransmission an einer Synapse (Poo, 2001).

Neurotrophine sind homodimere Proteine (Radziejewski et al., 1992). Bei BDNF, NT-3 und NT-4/5 ließen sich in vitro auch stabile Heterodimere bilden (Jungbluth et al., 1994). Im Stadium der Entwicklung des Zentralen Nervensystems spielen Nervenwachstumsfaktoren eine wesentliche Rolle, indem sie in die Apoptose eingreifen. In ihrem Zielgebiet kontrolliert eine limitierte Anzahl von Neurotrophinen das Überleben der Neuronen bis eine genügende Innervationsdichte zustande gekommen ist (Maisonpierre et al., 1990; Skaper, 2008).

Die Aktivierung der Neurotrophine in ihrem Zielgebiet wird über die proteolytische Spaltung durch die Serinprotease Plasmin und durch Matrix-Metalloproteinasen erreicht (Lee et al., 2001). Alle Neurotrophine binden mit gleicher Affinität an den p75-Neurotrophin-Rezeptor (p75 NTR), ein transmembranes Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 75 Kilodalton (Rodriguez-Tebar et al., 1990), und differenziert an die Familie der Tyrosinkinase-Rezeptoren (trkA, trkB und trkC). Trk-Rezeptoren sind ebenfalls transmembrane Glykoproteine, können aber die einzelnen Neurotrophine durch unterschiedliche Bindungsstellen selektieren. Die größte Affinität zu BDNF hat der TrkB-Rezeptor (Barbacid, 1995; Muragaki et al., 1995).

2.4.2 Das BDNF-Gen

Das humane BDNF-Gen befindet sich auf dem Chromosom 11p13 und wurde erstmals von Maisonpierre und Kollegen im Jahr 1991 identifiziert (Maisonpierre et al., 1991). Nach

Einleitung

heutiger Erkenntnis ist es in 11 Exons und 10 Introns mit 9 funktionalen Promotern strukturiert und umfaßt etwa 70 Kilobasenpaare (Abbildung 8).

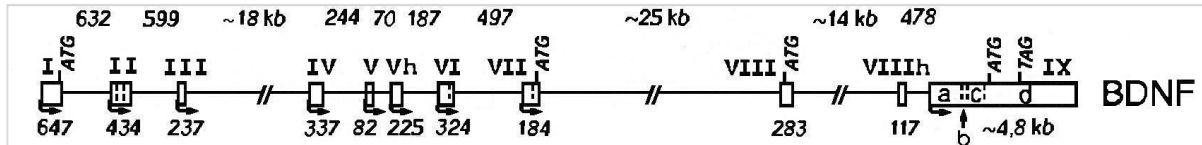


Abbildung 8: Aufbau des humanen BDNF-Gens (Pruunsild et al., 2007)

Die Transkription kann auch von Exon IX aus starten, etwa 1000 Nukleotide stromaufwärts des Translationsbeginns (Pruunsild et al., 2007). Es wird davon ausgegangen, dass verschiedene Promoter in den jeweiligen Zielgebieten des BDNF-Gens durch unterschiedliche mRNA-Transkripte gewebespezifisch genutzt werden können. So konnte im Versuch an Ratten nachgewiesen werden, dass mRNA-Transkripte, die im Gehirn vorkommen andere Exons erhalten, als die, die im peripheren Nervensystem exprimiert wurden (Timmusk et al., 1993; Bishop et al., 1994). Die Mehrzahl der humanen BDNF-Transkripte findet sich in höchster Konzentration im Gehirn. Einige wenige Transkripte werden aber auch in nicht-neuronalen Geweben wie der Plazenta, der Lunge oder in Hodengewebe stark exprimiert (Pruunsild et al., 2007)

2.4.3 Funktion und Wirkung von BDNF im ZNS

Die Bedeutung von BDNF im adulten Nervensystem und Gehirn ist seit Anfang der 1990er Jahre Bestandteil zahlreicher wissenschaftlicher Untersuchungen. Es wurde mehrmals nachgewiesen, dass der *Brain-Derived-Neurotrophic-Factor* protektiv und regenerativ auf Neuronen und Motoneuronen im adulten ZNS wirkt (Sendtner et al., 1992; Yan et al., 1992; Gravel et al., 1997; Kobayashi et al., 1997; Mamounas et al., 2000). BDNF wird sehr stark im Hippokampus exprimiert, einer Hirnregion, die im Gedächtnissystem eine bedeutende Rolle hat (Zola-Morgan et al., 1986; Gold und Squire, 2006).

Einleitung

Der Brain-Derived-Neurotrophic-Factor wird im ZNS über zwei unterschiedliche Bahnen segregiert. Zum einen wird er dauerhaft auf einem niedrigen Grundlevel ausgeschieden, zum anderen wird die Abgabe durch die Aktivität der Synapse reguliert (Karnik et al., 2010). Dabei hält die Sekretion auf dem Grundlevel die Funktionen der Synapse während der Entwicklung des ZNS aufrecht (Wang et al., 1998). Die synaptische Aktivität löst dann die aktivitätsabhängige Sekretion von BDNF aus (Lu, 2003). Verschiedene Studien demonstrieren, dass BDNF das Andocken der synaptischen Vesikel an die Zellmembran fördert und damit die synaptische Übertragung verstärkt (Gottschalk et al., 1998; Jovanovic et al., 2000; Xu et al., 2000). Das BDNF Gen wird in sekretorische Vesikel verpackt und anschließend in somatodendritische Kompartimente transportiert (Kojima et al., 2001) (Abbildung 9).

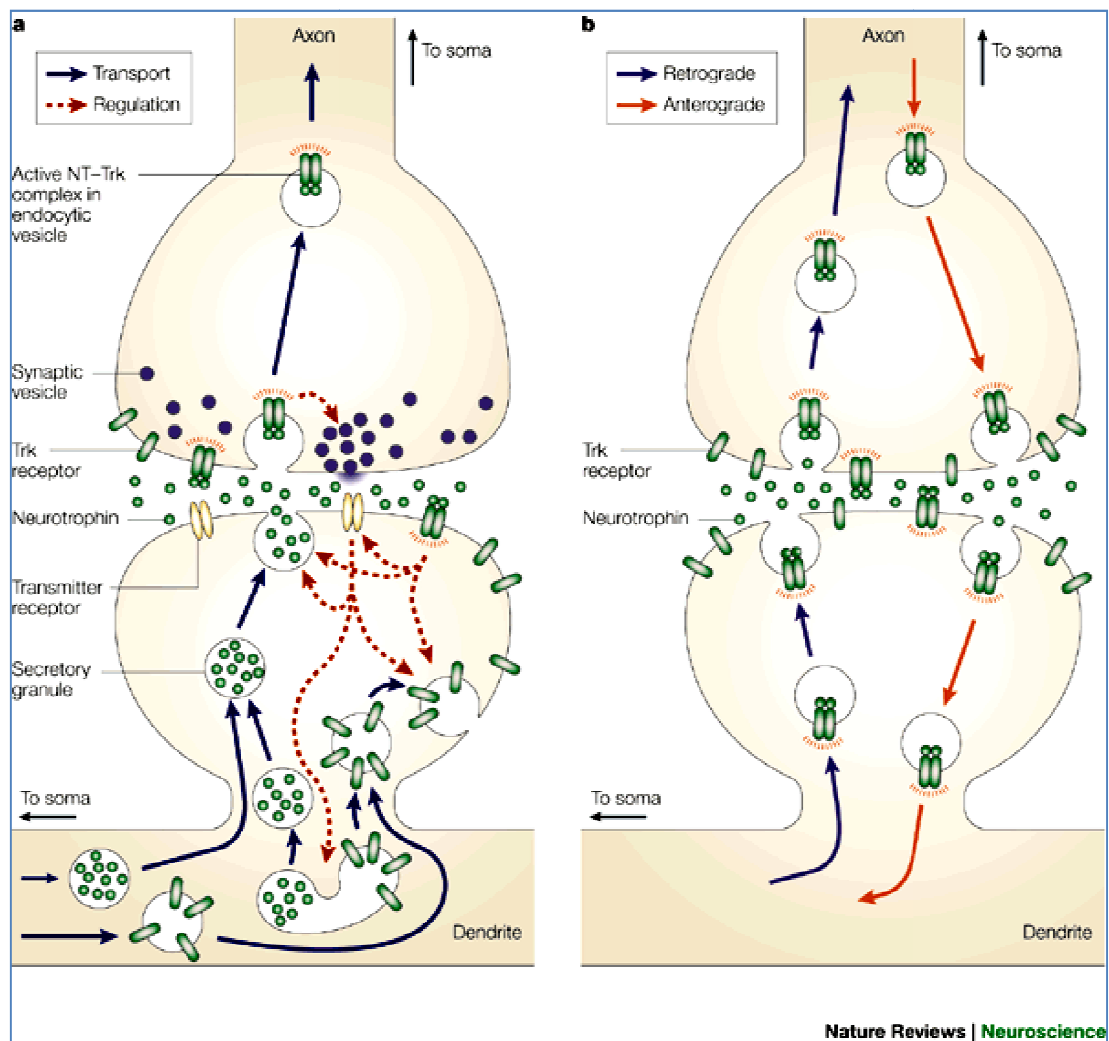


Abbildung 9: Transport und Sekretion von Neurotrophenen (Poo, 2001).

Einleitung

Darüber hinaus wurde festgestellt, dass BDNF dopaminerge Neuronen im Hirnstamm unterstützt, was auf eine große Bedeutung hinsichtlich der Pathophysiologie neuronaler Erkrankungen schließen lässt (Hyman et al., 1991). Eine neuere Studie erbrachte den Nachweis, dass eine Stimulierung der Dopaminrezeptoren D1 und D2 zu einer erhöhten Produktion von BDNF und zum Wachstum von Neuronen im adulten Striatum von Ratten führte (Hasbi et al., 2009).

Aber auch im GABAergen Neurotransmittersystem ist BDNF involviert. Es unterstützt die Entwicklung von GABAergen Neuronen und veranlasst die Expression des γ -Aminobuttersäure synthetisierenden Enzyms GAD67 und des GABA Transporters GAT-1 (Mizuno et al., 1994; Arenas et al., 1996).

Dass der *Brain-Derived Neurotrophic Factor* nicht nur bei der pränatalen Bildung der für das Gedächtnissystem notwendigen Gehirnstrukturen eine entscheidende Rolle spielt, sondern auch postnatal mittels seines TrkB-Rezeptors in die hippocampalen Prozesse der Langzeitpotentierung eingreift, konnte in mehreren wissenschaftlichen Versuchen dargestellt werden (Minichiello et al., 1999; Xu et al., 2000; Gärtner et al., 2006). Somit ist BDNF vermutlich direkt in das Lern- und Gedächtnissystem involviert. Defizite in der Langzeitpotentierung (LTP) konnten auch in Laborversuchen bei Maus-Mutanten festgestellt werden, denen das BDNF-Gen komplett fehlte (Figurov et al., 1996; Kang et al., 1997).

2.4.4 Psychiatrische Erkrankungen in Zusammenhang mit dem BDNF

Unter Berücksichtigung der Omnipräsenz des BDNF in vielen Hirnbereichen liegt auch die Vermutung nahe, dass veränderte Volumina oder eine veränderte Funktionalität dieses Neurotrophins neuronale Erkrankungen begünstigen oder bedingen können. 1997 konnten Siuciak et al. in einem Versuch an Ratten dem Brain-Derived-Neurotrophic-Factor einen antidepressiven Effekt nachweisen (Siuciak et al., 1997). Eine andere Studie sah einen Zusammenhang zwischen reduzierten Volumina von BDNF im Plasma und suizidaler Neigung bei Patienten mit Major Depression (Kim et al., 2007).

Einleitung

Auch der Einfluss von BDNF auf die Pathogenese der Alzheimer Krankheit wird seit mehreren Jahren untersucht. Postmortale Untersuchungen von Alzheimer Patienten zeigten im frontalen Cortex eine verminderte Expression von BDNF und vollständiger TrkB-Rezeptoren bei gleichzeitig erhöhter Expression von gekürzten TrkB-Rezeptoren (Ferrer et al., 1999). Auch im Temporallappen wurden bei Alzheimer-Patienten in vivo im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden deutlich verminderte BDNF Expressionen nachgewiesen (Lee et al., 2005).

In Zusammenhang mit der Pathogenese psychiatrischer Erkrankungen werden insbesondere den Polymorphismen des BDNF-Gens große Bedeutung zugewiesen. Die Assoziation des C-281 A Polymorphismus (rs28383487) des BDNF-Gens mit paranoider Schizophrenie wurde bei einer Gruppe polnischer Patienten untersucht. Der rs28383487 ist ein funktioneller Polymorphismus auf dem Nucleotid 83757 und liegt in der Promoterregion von BDNF. Auf DNA-Ebene verursacht er einen Nucleotid-Austausch von Cytosin nach Adenin (Jiang et al., 2005). Das A Allel dieses Polymorphismus ist relativ selten. In der kaukasischen Bevölkerung kommt es nur bei 3% der Menschen vor (Jiang et al., 2005). In der durchgeführten Studie mit den polnischen Patienten wurde ein Zusammenhang zwischen dem C/A Genotyp und einem späteren Ausbruch der paranoiden Schizophrenie bei Männern, jedoch nicht bei Frauen, abgeleitet (Suchanek et al., 2012).

In weiteren Untersuchungen konnte eine Assoziation zwischen BDNF, beziehungsweise dem G-714A Polymorphismus des BDNF, und Major Depression nachgewiesen werden (Lee und Kim, 2010; Bocchio-Chiavetto et al., 2010; Sun et al., 2010).

2.4.5 Der Val⁶⁶Met-Polymorphismus des BDNF-Gens

Das BDNF Gen enthält eine Vielzahl von Polymorphismen. Ein im humanen BDNF Gen relativ häufig vorkommender Polymorphismus ist der Single-Nucleotid-Polymorphismus (SNP) rs6265 an Position 196 (G/A). Er produziert an Codon 66 einen Aminosäureaustausch (Valin zu Methionin) und wird von daher auch als Val⁶⁶Met-Polymorphismus bezeichnet (Egan et al., 2003). Der Val⁶⁶Met-Polymorphismus nimmt

Einleitung

Einfluss auf den intrazellulären Transport und die aktivitätsabhängige Sekretion von BDNF (Egan et al., 2003; Chen et al., 2004). In Studien an Trägern des Met-Allels dieses Polymorphismus konnten Assoziationen mit einer veränderten hippocampalen Morphologie, sowie hippocampalen Funktionen und Gedächtnisleistungen nachgewiesen werden (Hariri et al., 2003; Bueller et al., 2006). Eine neuere Studie mit ausschließlich gesunden Probanden konnte allerdings keine Assoziation eines Genotyps mit dem Gesamthirnvolumen oder den Hippocampivolumina ableiten (Karnik et al., 2010). Aufgrund der hohen Funktionalität von BDNF im menschlichen Hirn wird angenommen, dass Gen-Varianten wie der Val⁶⁶Met-Polymorphismus, auch Einfluss auf psychiatrische Erkrankungen haben können.

Tsai et al. untersuchten den Einfluss des SNP rs6265 auf die Pathogenese von chinesischen Alzheimer-Patienten und Effekte auf den Ausbruch dieser Krankheit, konnten aber keine Assoziation ableiten (Tsai et al., 2004). In einer anderen Studie mit 264 Alzheimer-Patienten konnte aber ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Depressionen und dem Val⁶⁶Met-Polymorphismus dargestellt werden. Dabei zeigten Träger der Val/Met-Variante ein doppelt so hohes Risiko für Depression, Träger der Met/Met-Variante sogar ein dreimal so hohes Risiko für Depression im Vergleich zu Val-Homozygoten Trägern des BDNF-Gens (Borroni et al., 2009).

Inwieweit der Val⁶⁶Met-Polymorphismus zur Vulnerabilität von Depressionen beiträgt war Gegenstand mehrerer wissenschaftlicher Untersuchungen. In einer Studie mit 284 depressiven Patienten mexikanisch-amerikanischer Abstammung konnte eine Assoziation zwischen dem SNP rs6265 und Depression abgeleitet werden (Ribeiro et al., 2007). Eine andere Untersuchung mit 60 an Major Depression erkrankten Personen und 60 Kontrollprobanden wies eine Assoziation zwischen Trägern des Met-BDNF Allels und einem verkleinerten Volumen des Hippocampus nach, sowohl bei den Erkrankten als auch bei den gesunden Testpersonen innerhalb dieser Gruppe. In diesem Zusammenhang wurde angenommen, dass verkleinerte Volumina im Hippocampus ein Risiko für Major Depression bedeuten (Frodl et al., 2007). Weitere Studien zeigten allerdings keine konsistenten Ergebnisse bezüglich einer Assoziation zwischen dem Val⁶⁶Met-Polymorphismus und einer veränderten Morphologie des Hippocampus (Jessen et al., 2009; Cole et al., 2011; Hajek et al., 2011).

Einleitung

Eine post-mortem Analyse von Patienten mit bipolaren Störungen zeigte erhöhte BDNF Level im Vergleich zu Kontrollen (Knable et al., 2005). Lohoff und Mitarbeiter griffen die Ergebnisse auf und untersuchten 622 Patienten mit bipolaren Störungen sowie 998 Kontrollprobanden, die alle europäischer Herkunft waren. Darüber hinaus hatten die Patienten einen familiären Hintergrund mit affektiven Störungen. Die Analyse der Werte ergab, dass in der Gruppe der Patienten mit bipolarer Störung ein signifikant größerer Anteil an Trägern der Val-Allele war als bei den Kontrollen. Es wird vermutet, dass Träger der Val-Allele bei Personen mit europäischer Abstammung ein höheres Risiko zur Entwicklung von bipolaren Störungen haben (Lohoff et al., 2005).

In Bezug zu Morbus Parkinson konnten keine Assoziationen zum Val⁶⁶Met-Polymorphismus nachgewiesen werden (Hong et al., 2003; Karakasis et al., 2011).

2.4.6 Der Val⁶⁶Met-Polymorphismus in Bezug auf Kognition und Schizophrenie

Es ist davon auszugehen, dass BDNF einen elementaren Einfluss auf die Neuroplastizität im menschlichen Gehirn hat, insbesondere in der Region des Hippocampus. Und Neuroplastizität wiederum schafft die Voraussetzung für kognitive Funktionen wie Lernen und Gedächtnis (Lu und Gottschalk, 2000; Mizuno et al., 2000; Poo, 2001). Mit der Fragestellung welche Auswirkungen der Val⁶⁶Met-Polymorphismus durch den Einfluss auf den intrazellulären Transport und die aktivitätsabhängige Sekretion von BDNF im Hippocampus in Bezug auf Lern- und Gedächtnisleistungen nimmt, haben sich bereits mehrere wissenschaftliche Untersuchungen auseinandergesetzt. Durch die Assoziation von Fehlfunktionen des Hippocampus mit Schizophrenie sind in diesem Zusammenhang auch die Effekte des SNP rs6265 von großem Interesse.

Egan und Kollegen veröffentlichten 2003 die Ergebnisse einer Studie, bei der sie nicht nur die Wirkung des Val⁶⁶Met-Polymorphismus auf Gedächtnisleistungen analysierten, sondern darüber hinaus untersuchten, welchen Einfluss diese Gen-Variante des BDNF auf die Prozesse im humanen Hippocampus hat, unter der Annahme, dass daraus resultierende hippocampale Fehlfunktionen mit dem Risiko für Schizophrenie assoziiert sind. An der

Einleitung

Studie nahmen insgesamt 641 Personen im Alter von 18 bis 60 Jahren teil, die aus einer Gruppe von schizophrenen Patienten, deren nicht erkrankten Geschwistern, sowie gesunder Kontrollprobanden bestand. Die ethnische Herkunft der untersuchten Personen wurde mit 6,3% Afroamerikaner, 89,9% europäischstämmiger Amerikaner und 3,9% Individuen anderer Abstammung angegeben. Die Testreihe wurde in drei Abschnitten durchgeführt. Erstens wurde die Leistung des episodischen Gedächtnisses mittels des WMS-R Wechsler-Tests untersucht. Zweitens wurde eine neurophysiologische Messung der Aktivität im Hippocampus während des Gedächtnistestes mittels Magnetresonanztomographie durchgeführt. Und drittens wurde mittels Protonen-Magnetresonanz-Spektroskopie eine intrazelluläre, neurochemische Messung durchgeführt, um die neuronale Intaktheit und die synaptische Häufigkeit im Hippocampus zu analysieren. Außerdem wurden Hippocampusneurone aus Nagetieren mit Val- und Met-BDNF transfiziert, um die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen und beide Proteinvarianten mittels Fluoreszenzmikroskopie zu untersuchen. Dabei zeigten sich auffällige Unterschiede in der Verteilung und Sekretion der beiden Proteinvarianten Val- und Met-BDNF in den hippocampalen Neuronen. Val-BDNF wurde vor allem in den Dendriten lokalisiert, während Met-BDNF hauptsächlich im Zellkörper aufgefunden wurde. Als Ergebnis dieser Untersuchungsreihe wurde festgestellt, dass beim WMS-R Test schizophrene Patienten bei Wiedergabe nach 30 Minuten deutlich schlechtere Werte als gesunde Kontrollprobanden hatten. Die Werte der Geschwister lagen unabhängig vom rs6265-Genotyp zwischen denen der Kontrollprobanden und der schizophrenen Patienten. In der Gesamtstichprobe gab es einen signifikanten Zusammenhang zwischen den Allelen des rs6265 und der Leistung im WMS-R Wechsler Test ($F = 3,89$; $df = 2,591$; $p = 0,02$). Auch in der Kontrollgruppe war der Genotypeffekt signifikant ($F = 5,04$; $df = 2,130$; $p = 0,008$). Dabei zeigten die Met/Met-Träger die schlechteste Leistung im WMS-R Test. Dies galt auch bei schizophrenen Patienten und ihren Geschwistern. Bei diesen beiden Gruppen waren die Effekte aber nicht signifikant. Bei der sofortigen Wiederholung der Inhalte im WMS-R Test zeigten sich ähnliche Ergebnisse. Met/Met-Träger waren schlechter als Val/Met- und Val/Val-Träger. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Val⁶⁶Met-Polymorphismus und Schizophrenie konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden (Egan et al., 2003).

Die Ergebnisse dieser Untersuchung wurden weitestgehend in einer Studie bestätigt, die mit 108 chinesischen schizophrenen Patienten und 145 gesunden Kontrollprobanden stattfand.

Einleitung

Auch hier zeigten die Träger des Met/Met- oder Met/Val-Genotyps schlechtere Gedächtnisleistungen als Träger des Val/Val-Genotyps. Eine Assoziation zwischen dem rs6265 und Schizophrenie konnte ebenfalls nicht festgestellt werden (Tan et al., 2005).

In einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie untersuchten Pae und Kollegen den Einfluss von fünf verschiedenen Polymorphismen des BDNF-Gens auf Major Depression, Bipolare Störungen und Schizophrenie. Dazu rekrutierten sie aus der Psychiatrischen Abteilung der katholischen Universitätsklinik in Seoul, Korea, 145 Patienten mit Major Depression, 132 Patienten mit bipolaren Störungen und 221 schizophrene Patienten. Alle Patienten mussten den Kriterien von DSM-IV entsprechen und wurden zudem mit dem *Mini-International Psychiatric Interview* (MINI) diagnostisch abgeklärt. Die Gruppe der Kontrollprobanden setzte sich aus 170 gesunden, koreanischen Personen zusammen, die die gleichen diagnostischen Verfahren bestehen mussten. Darüber hinaus galten als Ausschlusskriterien psychiatrische Störungen bei Verwandten ersten oder zweiten Grades. Die Genotypverteilung erfüllte das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Das Ergebnis dieser Studie ergab keine Assoziation des rs6265 mit Schizophrenie (Pae et al., 2012).

Dempster et al. wollten die Befunde von Egan und Kollegen replizieren. Dazu genotypisierten sie eine Stichprobe aus einfach oder mehrfach an Schizophrenie betroffenen Familien. Neben der Assoziation des rs6265 mit Schizophrenie, die durch einen Transmissions-Disequilibrium-Test (TDT) analysiert wurde, wurde auch die Assoziation mit Gedächtnisleistungen anhand der WMS-R untersucht. Von den 206 Studienteilnehmern waren 92 Patienten und 114 nicht erkrankte Verwandte. Alle Personen waren weiße, kaukasische Europäer, die aus insgesamt 77 Familien stammten. Davon waren 42 Familien einfach und 35 Familien mehrfach von Schizophrenie betroffen. Unter den 92 Patienten waren 85 an Schizophrenie erkrankt, die anderen Patienten wiesen andere Formen von Psychosen auf (unipolare Depression, Depression mit Psychose, schizotype Persönlichkeitsstörung, bipolare Störung). Dempster und Kollegen konnten mittels des TDT nachweisen, dass Träger der Val-Allele des BDNF Gens bei den von Schizophrenie betroffenen Familienmitgliedern leicht überrepräsentiert waren. Die Werte wurden jedoch als nicht signifikant eingestuft. Beim WMS-R Test wurde der Wert für die verzögerte Wiedergabe des Untertest „Logisches Gedächtnis“ verwendet, da dieser das episodische Gedächtnis misst. Der Wert für die verzögerte Wiedergabe reflektiert die Menge an

Einleitung

Information aus zwei Texten, die der Proband nach 30 Minuten noch wiedergeben kann. Außerdem wurden noch die Messwerte für die sofortige Wiedergabe und das Verhältnis von verzögerter Wiedergabe zu sofortiger Wiedergabe ausgewertet. In der Gesamtstichprobe gab es einen nichtsignifikanten Trend dahin, dass der BDNF-Genotyp mit dem Wert für die verzögerte Wiedergabe im WMS-R assoziiert ist ($p = 0,09$). Dabei erzielten Met/Met-Träger die schlechtesten Werte. In der Gruppe der nicht erkrankten allein gab es einen signifikanten Zusammenhang ($p = 0,01$), jedoch bei der Betrachtung der Ergebnisse der Gruppe der Patienten, ergab sich keine signifikante Assoziation. Für die sofortige Wiedergabe und das Verhältnis von verzögerter zu sofortiger Wiedergabe ergaben sich ähnliche Ergebnisse. Die Analyse des TDT zeigte einen Trend zur Assoziation des Val-Allels mit Psychose ($p = 0,06$). Dempster et al. konnten damit bestätigen, dass rs6265 mit dem episodischen Gedächtnis assoziiert ist. Die Assoziation wurde in dieser Studie aber nur bei den gesunden Verwandten gefunden, und nicht bei der Gruppe der Patienten (Dempster et al., 2005).

Eine andere Studie untersuchte Effekte des Val⁶⁶Met-Polymorphismus auf das Arbeitsgedächtnis mittels des quantitativen Transmissions-Disequilibrium-Test bei 785 gesunden heranwachsenden Zwillingen und Geschwistern. Im Ergebnis wurde keine Assoziation zwischen rs6265 und dem Arbeitsgedächtnis nachgewiesen (Hansell et al., 2007).

Inwieweit gesunde Angehörige von schizophrenen Patienten in ihren Exekutivfunktionen beeinträchtigt wurde im Rahmen der *Edinburgh High Risk Study (EHRS)* untersucht. Die EHRS ist eine schottische Langzeitstudie an der 162 Personen im Alter von 16 bis 25 Jahren teilnehmen, die zwei Verwandte ersten oder zweiten Grades haben, die an Schizophrenie erkrankt sind (Johnstone et al., 2003). Die Untersuchung, die Whalley und Kollegen innerhalb dieser Studienreihe durchführten setzte sich aus 62 Teilnehmern dieser Riskogruppe zusammen. Während die Probanden Aufgaben aus dem *Hayling Sentence Completion Test* (HSCT) gestellt bekamen, wurden mit Hilfe von funktionellen bildgebenden Verfahren die Aktivitäten in ihren Gehirnen gemessen. Bei dem HSCT müssen die Probanden zum einen unvollständige Sätze mit einem passenden Wort beenden (Antwortaktivierung), zum anderen unvollständige Sätze mit einem unpassenden Wort beschließen. Letzteres erfordert von den Teilnehmern eine Unterdrückungsfähigkeit

Einleitung

(Inhibitionsfähigkeit). Probanden, die Träger des Val/Val-Genotyps waren, zeigten dabei eine erhöhte Aktivierung des Anterioren Cingularen Cortex im Vergleich zu Trägern des Met-Genotyps bei gleicher Aufgabenstellung. Bei der weiteren Untersuchung erschien es, dass diese erhöhte Aktivierung bei den Val/Val-Trägern durch das Unvermögen ausgelöst wurde die Aufgaben entsprechend zu lösen. Das traf sowohl auf die Antwortaktivierung als auch die Inhibitionsfähigkeit zu. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass BDNF Funktionen des präfrontalen Cortex bei Menschen mit einem hohen genetischen Risiko für Schizophrenie beeinflusst, unbeeinträchtigt von medikamentösen Effekten. Es wird angenommen, dass BDNF einer der genetischen Faktoren ist, die bei der Entwicklung von abnormen Funktionen des präfrontalen Cortex in der Schizophrenie beteiligt sind (Whalley et al., 2010).

Eine Meta-Analyse, die die Ergebnisse aus 31 unabhängigen Studien zur Assoziation des Val⁶⁶Met-Polymorphismus mit kognitiven Fähigkeiten auswertete, konnte allerdings keine signifikante genetische Assoziation zwischen dem rs6265 und kognitiven Funktionsstörungen ableiten (Mandelman und Grigorenko, 2012).

Keine einheitlichen Ergebnisse gab es bei Untersuchungen inwieweit Träger des Val⁶⁶Met-Polymorphismus mit Schizophrenie assoziiert sind. Bei der Untersuchung der Verteilungshäufigkeit von Trägern des rs6265 konnten Skibinska und Kollegen in einer Studie mit schizophrenen Patienten aus der kaukasischen Bevölkerung keine Assoziation mit Schizophrenie ableiten. Auch die Analyse der Allel-Verteilung bestätigte die Resultate (Skibinska et al., 2004). Das Ergebnis von Skibinska und Kollegen wurde weitestgehend von einer anderen Studie bestätigt, die ebenfalls eine Gruppe kaukasischer, schizophrener Patienten untersuchte (Jönsson et al., 2006).

Den Verdacht, dass rs6265 mit Schizophrenie assoziiert sein könnte, erhärtete eine große schottische Studie an der unter anderem 321 kaukasische, schizophrene Patienten und 350 gesunde Kontrollprobanden teilnahmen. Neben dem rs6265 wurde dabei ein Dinucleotid-Repeat-Polymorphismus (DRP) genotypisiert, der 1040 Basenpaare vor dem Transkriptionsstart von BDNF lokalisiert ist. Diese beiden Polymorphismen zeigten ein starkes Kopplungsungleichgewicht. Bei dem Dinucleotid-Repeat-Polymorphismus zeigte sich keine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie, aber ein Haplotyp aus dem A-

Einleitung

Allel des rs6265 und dem Allel 1 des Dinucleotid-Repeat-Polymorphismus kam bei den Patienten signifikant seltener vor als bei den Kontrollen. Die Autoren der Studie nahmen an, dass dieser spezielle Haplotyp das Risiko, eine Schizophrenie zu entwickeln, herabsetzt (Neves-Pereira et al., 2005). Auch eine Testreihe aus der armenischen Bevölkerung zeigte eine Assoziation zwischen dem Val⁶⁶Met-Polymorphismus und Schizophrenie. Darüber hinaus korrelierten Träger des Met/Met-Genotyps mit einem früheren Ausbruch der Krankheit (Zakharyan et al., 2011).

Dass der Val⁶⁶Met-Polymorphismus Einfluss auf den Zeitpunkt des Ausbruches der Schizophrenie haben könnte, wird häufig diskutiert. In einer japanischen Studienreihe wurde festgestellt, dass der Zeitpunkt des Ausbruchs bei Trägern des Val/Val-Genotyps im Durchschnitt im Alter von 27,5 (+/- 9,5) Jahren war, bei Trägern des Val/Met-Genotyps im Alter von 25,5 (+/- 7,4) und bei Trägern des Met/Met-Genotyps im Alter von 22,9 (+/- 6,0) Jahren lag (Numata et al., 2006). Die Assoziation zwischen dem Val⁶⁶Met-Polymorphismus und dem Alter des Ausbruches der Schizophrenie wurde durch eine Testreihe mit chinesischen schizophrenen Patienten bestätigt (Zhou et al., 2010). Da ein Nachweis dieser Verbindung in Studien mit kaukasischen schizophrenen Patienten (Gourion et al., 2005) nicht gefunden werden konnte, wird angenommen, dass diese Assoziation nur für eine spezifische ethnische Herkunft gilt (Zhou et al., 2010).

Es wird angenommen, dass der Val⁶⁶Met-Polymorphismus des BDNF Gens mit einer veränderten Morphologie des Gehirns bei schizophrenen Patienten assoziiert ist. In einer Testbatterie, die die Gehirne von 119 Patienten kurz nach dem Ausbruch der Krankheit über drei Jahre mittels hochauflösender Magnetresonanztomographie untersuchte wurden bei Trägern der Met-Allele signifikante Reduzierungen der Volumina der frontalen grauen Substanz bei gleichzeitiger Vergrößerung der lateralen Ventrikel beobachtet (Ho et al., 2007). Ho und Mitarbeiter stellten aber auch fest, dass die Einnahme von Antipsychotika, unabhängig vom BDNF Genotyp mit einer Abnahme der frontalen grauen Substanz verbunden ist. Die Effekte der veränderten Gehirnmorphologie haben aber vermutlich unterschiedliche Auswirkungen im Vergleich von schizophrenen Patienten zu gesunden Personen (Agartz et al., 2006).

Auch Karnik und Kollegen untersuchten die Assoziation von rs6265 in Bezug auf veränderte Hirnvolumina und Gedächtnisleistungen. Zwei Gruppen von gesunden

Einleitung

Erwachsenen, bei denen psychiatrische Erkrankungen ausgeschlossen wurden, bildeten das Probandenteam. Insgesamt wurden in der Studienreihe vier Gedächtnistests durchgeführt: die *Category Fluency Task (Animals)*, der *WMS Logical Memory I*, der *WMS Digit Span Forwards* und der *WMS Digit Span Backwards*. Die Genotypisierung der Studienteilnehmer ergab eine Verteilung von 1 Met/Met-Träger, 41 Met/Val-Träger und 87 Val/Val-Träger. Die Messungen der Gesamthirn- und Hippocampusvolumina wurde mittels Magnetresonanztomographie durchgeführt. Im Ergebnis konnte keine signifikante Assoziation eines Genotyps auf das Gesamthirnvolumen oder die Hippocampusvolumina nachgewiesen werden. Darüber hinaus gab es keine signifikante Assoziation eines Genotyps mit Gedächtnisleistungen (Karnik et al., 2010). Nachfolgend eine Übersicht über die Ergebnisse durchgeführter Untersuchungsreihen des SNP rs6265 in Bezug auf Schizophrenie und/oder Gedächtnisleistungen (Tabelle 3):

Tabelle 3: Ausgewählte Ergebnisse von Studienreihen des SNP rs6265 in Bezug auf Schizophrenie und Gedächtnisleistungen

Studie	Assoziation Schizophrenie	Assoziation Gedächtnisleistungen
Egan et al., 2003	nein	Met/Met alle Probanden
Skibinska et al., 2004	nein	nicht untersucht
Tan et al., 2005	nein	Met/Met alle Probanden
Neves-Pereira et al., 2005	Val	nicht untersucht
Dempster et al., 2005	nicht untersucht	Met/Met nur schizophrene Patienten
Jönsson et al., 2006	nein	nicht untersucht
Hansell et al., 2007	nicht untersucht	nein
Karnik et al., 2010	nicht untersucht	nein
Zahharyan et al., 2011	Met	nicht untersucht
Mandelman und Grigorenko, 2012	nicht untersucht	nein (Meta-Analyse)
Pae et al., 2012	nein	nicht untersucht

3 Fragestellung

Die Komplexität der Ätiologie in Zusammenhang mit der Vielschichtigkeit der Symptomatik hat eine Entschlüsselung der Pathophysiologie der Schizophrenie bis zum heutigen Tag erheblich erschwert. Die Wissenschaft ist sich aber weitestgehend einig, dass neben einer genetischen Disposition auch andere (Umwelt-) Faktoren bei der Entwicklung dieser psychiatrischen Erkrankung eine Rolle spielen.

Durch die in den vergangenen Jahren zunehmenden methodischen Entwicklungen der Molekularbiologie kann nunmehr genomweit nach Hinweisen zur Entstehung von Krankheiten geforscht werden. In der Annahme, dass bei Schizophrenie ein polygener Erbgang vorliegt, sollen in Fall-Kontroll-Assoziationsstudien solche Genorte identifiziert werden, die nur einen kleinen Effekt auf die Suszeptibilität der Erkrankung ausüben.

Auch kognitive Leistungen, wie Gedächtnisfunktionen, unterliegen dem Einfluss von genetischen und Umweltfaktoren. Bei Untersuchungen an schizophrenen Patienten wurde festgestellt, dass mit der Erkrankung häufig Störungen im Gedächtnissystem einhergehen.

In vorangegangenen Studien wurde oftmals der Einfluss des BDNF auf psychiatrische Erkrankungen und kognitive Leistungen diskutiert. Durch seine protektive und regenerative Wirkung auf Neuronen und Motoneuronen im adulten ZNS aber auch seinen Einfluss auf Neurotransmitter wird BDNF als Kandidatengen bei der Entwicklung von Schizophrenie betrachtet. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren jedoch bislang inkonsistent, so dass eine Beteiligung dieses Neurotrophins an der Ätiologie der Schizophrenie nicht gesichert ist. Durch die starke Expression von BDNF im Hippocampus liegt die Vermutung nahe, dass BDNF auch in das Gedächtnissystem eingreift.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung eines Zusammenhanges zwischen dem funktionellen Polymorphismus Val⁶⁶Met des BDNF-Gens (rs6265) und Schizophrenie innerhalb einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie an 135 schizophrenen Patienten und 313 Kontrollpersonen. Daneben wurde in einer Endophänotypenstudie die Assoziation von rs6265 mit Gedächtnisleistungen mit Hilfe des Wechsler-Gedächtnis-Tests in revidierter

Fragestellung

Fassung (WMS-R) untersucht. Die Genotypisierung des Polymorphismus rs6265 erfolgte mittels einem MALDI-TOF gestützten Verfahrens mit Hilfe der iPLEX Technologie, die nach dem Prinzip der Einzelbasenverlängerung arbeitet.

4 Material und Methoden

4.1 Rahmenbedingungen der Studie

Die vorliegende Untersuchung wurde im Rahmen einer großen Fall-Kontroll-Studie in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU) durchgeführt. Die neuropsychologischen Tests und die Laboruntersuchungen fanden ebenfalls in den Räumen der Klinik statt. Die im Rahmen der Studie gewonnenen Daten und Ergebnisse wurden anonymisiert. Die lokale Ethikkommission stimmte der Durchführung der Studie zu.

4.2 Studienteilnehmer

Insgesamt konnten für die Studie 484 Teilnehmer beiderlei Geschlechts rekrutiert werden. Die Gruppe der schizophrenen Patienten umfasste 135 Personen im Alter von 19 bis 72 Jahren. Das Durchschnittsalter dieser Gruppe lag bei 47,7 Jahren, die Standardabweichung bei 14,9 Jahren. 313 männliche und weibliche Personen im Alter von 20 bis 74 Jahren bildeten das Kollektiv der Kontrollprobanden. Bei dieser Gruppe war das Durchschnittsalter 39,2 Jahre und die Standardabweichung 10,4 Jahre. Jeder Studienteilnehmer wurde nach seinem Schulabschluss gefragt und es wurden drei Gruppen gebildet. 182 Studienteilnehmer wiesen einen hohen Bildungsabschluss auf (Hochschulreife), während 183 Personen über einen mittleren Schulabschluss (Realschulabschluss oder gymnasiale Oberstufe ohne Abitur) und 119 Teilnehmer über einen niedrigen Schulabschluss verfügten (Hauptschule oder Realschule ohne Abschluss) (Tabelle 4).

Tabelle 4: Schulbildung der eingeschlossenen Studienteilnehmer

	niedrig	mittel	Hoch	Gesamt
Schulabschluss	119 (24,6%)	183 (37,8%)	182 (37,6)	484 (100%)

4.2.1 Schizophrene Patienten

Die Teilnehmer dieser Gruppe wurden aus dem Patientenregister der schizophrenen Patienten der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München rekrutiert. Die Teilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis. Zunächst wurde das Interesse der schizophrenen Patienten an der Teilnahme an einer Untersuchung telefonisch angefragt. Bei positiver Rückmeldung wurden die schizophrenen Patienten zu einem persönlichen in die Klinik Gespräch eingeladen oder wurden alternativ in ihrer häuslichen Umgebung zum Erstgespräch aufgesucht. Vorbedingung für die Teilnahme an der Testbatterie war, dass sich die Patienten in einer stabilen Phase befanden. Darüber hinaus wurden in die Testreihe nur schizophrene Patienten eingeschlossen, deren kaukasische Herkunft sich auf die letzten drei Generationen zurückverfolgen ließ.

Bei dem Erstgespräch fand eine standardisierte Anamneseerhebung mithilfe eines vorbereiteten Anamnesebogens statt. Zunächst wurden die persönlichen Daten aufgenommen. Anschließend erfolgte die Erfassung des Lebenslaufes, der familiäre und soziale Merkmale, Bildungsabschluss und berufliche Laufbahn, sowie Krankheitsdaten einschloss. Als Ausschlusskriterien für die Teilnahme waren Substanzmissbrauch oder organische Störungen, die psychotische Störungen begünstigen könnten. Daneben wurde nach psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen aus dem familiären Umfeld des Patienten gefragt.

Nach der Anamneseerhebung erfolgte das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV (SKID I und SKID II) (Wittchen et al. 1997), das die Symptome und den Verlauf der Krankheit analog der Richtlinien der DSM-IV klassifizierte und die vormals getätigte Diagnostik überprüfte.

4.2.2 Kontrollprobanden

Die Rekrutierung der Kontrollprobanden erfolgte in einem mehrstufigen Auswahlverfahren. Zunächst wurden mithilfe der Daten des Einwohnermeldeamtes Personen aus dem

Material und Methoden

Großraum München zufällig ausgewählt und anschließend ihre freiwillige Bereitschaft an der Teilnahme dieser Testreihe schriftlich angefragt. Bei positiver Rückmeldung erfolgte ein standardisiertes Telefonscreening, das zunächst die grundsätzliche Eignung für die Teilnahme prüfte. So mussten die Kontrollprobanden volljährig sein und mindestens in der dritten Generation deutscher Abstammung. Danach erfolgte eine erste Anamneseerhebung, die folgende Ausschlusskriterien bei den Kontrollprobanden verifizierte: das Vorliegen einer psychiatrischen Störung, psychiatrischen Behandlung oder Psychotherapie, Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenabusus, eine derzeitige neurologische, infektiöse, schwere somatische oder Tumorerkrankung, ein Suizidversuch oder ein Unfall mit Schädelfraktur oder Schädel-Hirn-Trauma. Darüber hinaus wurden Fragen zum Lebenslauf und zum aktuellen familiären, beruflichen und sozialen Umfeld erhoben.

Nach der Analyse dieser Sichtungsrunde wurden die Teilnehmer, die die Voraussetzungen erfüllten zu einem weiteren Termin in die Klinik eingeladen. Zunächst wurde eine kurze körperliche und neurologische Untersuchung durchgeführt, die eine Funktionsüberprüfung der Hirnnerven ebenso enthielt wie unter anderem den Reflexstatus sowie sensorische, motorische und koordinative Fähigkeiten überprüfte. Im Anschluss wurde auch bei diesem Personenkreis das SKID I und II durchgeführt. Darüber hinaus wurde im Rahmen des *Family History Assessment Modul (FHAM)* (Rice et al., 1995) überprüft, inwieweit psychiatrische Erkrankungen im familiären Umfeld der Probanden vorlagen oder ob bei Verwandten ersten Grades Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenabusus oder antisoziale Tendenzen vorkamen. Eine somatische Erkrankung des Probanden oder eine positive psychiatrische Familienanamnese waren Ausschlusskriterien für die weitere Teilnahme an der Testreihe.

Darüber hinaus wurde bei Personen, die das sechzigste Lebensjahr vollendet hatten, der Mini Mental Status Test (MMST) durchgeführt (Folstein et al., 1975). Mit dem MMST können neben neurodegenerativen Hirnveränderungen auch kognitive Einschränkungen, wie zum Beispiel bei Depression oder Altersdepression, abgegrenzt werden, die das Testergebnis beeinflussen könnten. Die Aufgaben innerhalb des Tests konnten mit einer Maximalpunktzahl von 30 Punkten gelöst werden. Für die Teilnahme an der Untersuchung wurden mindestens 27 Punkte vorausgesetzt.

4.3 Neuropsychologisches Testverfahren

4.3.1 Der Wechsler Gedächtnistest

Die Tests zur Gedächtnisleistung der Probanden wurden mit dem WMS-R (Wechsler Memory Scale Revised) durchgeführt (Härting et al., 2000). Der WMS-R ist ein international anerkannter Test, der 1945 vom amerikanischen Psychologen David Wechsler veröffentlicht wurde. Der Wechsler Gedächtnistest ist die deutsche Adaption der überarbeiteten Fassung aus dem Jahr 2000. Er gliedert sich in insgesamt 13 Untertests, die eine große Bandbreite von verbalen und non-verbalen Aufgaben des Kurz- und Langzeitgedächtnisses umfassen. Zu den mnestischen Funktionen, die im WMS-R getestet werden zählen das verbale und visuelle Gedächtnis, die zusammen den Komplex des allgemeinen Gedächtnisses bilden, sowie das verzögerte Gedächtnis. Darüber hinaus werden Aufmerksamkeit und Konzentration methodisch gemessen.

4.3.2 Durchführung der Testreihen

Die Durchführung der Tests und die Bewertung der Ergebnisse erfolgte analog zum Handbuch des WSM-R (Härting et al., 2000). Die Tests wurden in Einzeluntersuchungen von jeweils 45 bis 60 Minuten Dauer durchgeführt. Jeder Untersuchungsleiter, der die Tests durchführte hatte vorher eine entsprechende Schulung erhalten. Zum Testmaterial gehörten das Handbuch mit Hinweisen zur Instruktion, ein Protokollbogen mit Zeichenblättern der Visuellen Wiedergabe, das Stimulusheft zum Figuralen Gedächtnis, das Stimulusheft zur Visuellen Paarerkenung, die Testhefte zur Visuellen Paarerkenung A und B, vier Stimuluskarten zur Visuellen Wiedergabe, sowie ein Bleistift, ein Radiergummi und eine Uhr mit Sekundenzeiger.

Zu Testbeginn wurden den Probanden 14 Fragen zur persönlichen, zeitlichen und örtlichen Orientierung, sowie Fragen zum Allgemeinwissen gestellt. Die Auswertung dieser Fragen ging dabei nicht in die Beurteilung der Gedächtnisleistungen des Probanden ein, sondern diente zur Einschätzung der Durchführbarkeit der Tests sowie der Interpretierbarkeit der

Material und Methoden

einzelnen Ergebnisse. Beispielhaft lauteten die Fragen: „Wo sind Sie geboren?“ oder „Welcher Wochentag ist heute?“. Darüber hinaus wurde abgeklärt, ob der Proband Links- oder Rechtshänder war oder Einschränkungen im Sehen oder Hören hatte. Es erfüllten alle 448 Probanden die Grundkriterien zur Testdurchführung.

In dem Subtest „Mentale Kontrolle“ musste der Proband innerhalb eines Zeitlimits drei überlernte Reihen von Zahlen oder Buchstaben aufzählen. Zu den Aufgaben zählten das Rückwärtszählen von 20 bis 1, das Aufsagen des Alphabets und das Zählen in 3er-Schritten.

Als nächstes mussten die Probanden Aufgaben zum Figuralen Gedächtnis durchführen. Dabei wurde ihnen innerhalb eines bestimmten Zeitfensters eine unterschiedliche Anzahl von Mustern dargeboten, die sie im Folgenden jeweils aus einer größeren Menge von Mustern wiedererkennen sollten.

Beim Subtest „Logisches Gedächtnis I (Textreproduktion I)“ wurden vom Testleiter nachfolgend zwei gleich lange Geschichten vorgelesen, die der Proband jeweils direkt im Anschluss möglichst genau nacherzählen musste. Die Antworten wurden vom Testleiter weitestgehend wortwörtlich protokolliert, da bestimmte Aussageeinheiten in die Bewertung flossen. Nach den Nacherzählungen wurden die Probanden darauf hingewiesen, dass im weiteren Verlauf der Tests noch einmal nach den Geschichten gefragt werde.

Bei der „Visuellen Paarerkenung I“ wurden dem Probanden sechs Strichfiguren aus dem Stimulusheft gezeigt, die jeweils mit einer bestimmten Farbe gepaart waren. Im direkten Anschluss wurden die Strichfiguren allein dargeboten und der Proband hatte die Aufgabe, innerhalb von drei Sekunden auf die jeweils dazugehörige Farbe im Testheft zu zeigen. Wurden den Figuren nicht die richtigen Farben zugeordnet, erfolgte durch den Testleiter der Hinweis, welches jeweils die richtige Farbe war. Bei richtiger Zuordnung gab es durch den Testleiter eine entsprechende Bestätigung. Im zweiten Teil dieses Aufgabenbereiches wurden der Testperson sechs Figuren-Farb-Kombinationen jeweils 3 Sekunden lang gezeigt, die er anschließend innerhalb von fünf Sekunden zuordnen sollte. Im dritten Teil wurde für die Figuren-Farb-Kombinationen eine andere Reihenfolge gewählt. Auch hier galt es den Figuren die richtigen Farben zuzuordnen. Zum Abschluss dieser Testsequenz

Material und Methoden

zeigte der Testleiter nochmals die Figuren mit den dazugehörigen Farben unter dem Hinweis, dass der Proband sich die Kombinationen so lange wie möglich merken soll.

Der anschließende Subtest „Verbale Paarererkennung I“ war das verbale Pendant zum vorherigen Test. Dem Probanden wurden vom Testleiter acht Wortpaare vorgelesen, von denen er jeweils das zweite Wort bei der anschließenden Vorgabe des jeweils ersten Wortes wiederholen sollte. Auch in diesem Subtest erfolgten vom Testleiter Korrektur oder Bestätigung. Im Folgenden sollte sich der Proband in zwei weiteren Durchgängen an die jeweils acht Wortpaare erinnern. Bei korrekter Zuordnung der Wortpaare nach dem dritten Durchgang war dieser Subtest beendet. Bei fehlerhafter Zuordnung wurde ein vierter, fünfter oder sechster Durchgang durchgeführt. Analog zum Subtest „Visuelle Paarererkennung I“ wurde der Proband darauf hingewiesen, dass er sich die Wortpaare für den Abruf im weiteren Verlauf des Gesamttests merken sollte.

In dem nächsten Subtest, der „Visuellen Wiedergabe I“, wurden dem Probanden jeweils zehn Sekunden lang vier Stimuluskarten mit abgebildeten Figuren vorgelegt, die er jeweils direkt im Anschluss an die Präsentation der jeweiligen Karte aus dem Gedächtnis heraus reproduzieren sollte. Dem Probanden wurde die Möglichkeit gegeben mit einem Radiergummi Korrekturen durchzuführen, bis er selbst mit dem Ergebnis einverstanden war. Nach der vierten Zeichnung wurde ihm gesagt, dass er nach diesen Figuren zu einem späteren Zeitpunkt nochmals gefragt wird.

Bei der „Zahlenspanne“ wurden dem Probanden zwei Zahlenfolgen mit anfänglich drei Zahlen vorgelesen, wobei die Geschwindigkeit des Vorlesens für jede Zahl bei einer Sekunde lag. Der Proband musste im direkten Anschluss die Zahlenfolgen repetieren. Korrekturen oder Bestätigungen durch den Testleiter erfolgten nicht. Bei den nachfolgenden Zahlenkolonnen wurde die Anzahl der Zahlen jeweils um einen erhöht bis schließlich eine Zahlenfolge von acht Zahlen erreicht war. Im zweiten Abschnitt dieses Subtests wurden dem Probanden wieder zwei Zahlenfolgen mit anfänglich zwei Zahlen in demselben Tempo vorgelesen, die er unmittelbar nach der jeweiligen Zahlenfolge in umgekehrter Reihenfolge, also rückwärts, wiederholen sollte. Diesmal erfolgte aber durch den Testleiter bei Falschnennung eine Korrektur, bzw. bei richtiger Nennung eine Bestätigung.

Material und Methoden

Der Untertest „Visuelle Merkspanne (Blockspanne)“ bestand aus zwei Aufgabentypen, der Blockspanne vorwärts und der Blockspanne rückwärts. Dabei wurden im ersten Teil vom Testleiter zwei von acht Würfeln mit unterschiedlicher Anordnung auf einem Blockspannbrett für jeweils eine Sekunde lang angetippt. Der Proband hatte danach die Aufgabe dieselben Würfel in derselben Reihenfolge anzutippen. Der Vorgang wurde mit der gleichen Anzahl von Würfeln in unterschiedlicher Reihenfolge wiederholt. Bei korrekter Wiedergabe durch den Probanden wurde die Anzahl der angetippten Würfel jeweils um eine erhöht mit einer weiteren Folge der gleichen Anzahl, bis schließlich die Folge der angetippten Würfel auf acht erhöht wurde. Im zweiten Teil der Visuellen Merkspanne musste der Proband die angetippten Würfel in umgekehrter Reihenfolge berühren, wobei die Anzahl zunächst bei zwei Würfeln lag, mit einer Folge dergleichen Anzahl. Bei dieser Versuchsanordnung wurden dem Probanden durch den Testleiter jedoch Korrektur- oder Bestätigungshinweise gegeben. Bei korrekter Ausführung wurde in den nächsten zwei Folgen die Anzahl der Würfel um jeweils einen bis maximal sieben erhöht.

Zum Abschluss der Testreihe, aber mit mindestens 30 Minuten Zeitdifferenz, wurden die Subtests durchgeführt, bei denen der Proband zuvor einen Hinweis bekommen hatte sich etwas gut einzuprägen. Bei der Visuellen Paarerkenkung II wurden ihm erneut die Figuren-Farb-Kombinationen aus der Visuellen Paarerkenkung I gezeigt. Für die Zuordnung der jeweiligen Farbe zur dargebotenen Figur bekam der Proband jeweils ein Zeitlimit von 10 Sekunden. Danach folgte der Abruf der zuvor genannten Wortpaare mit dem gleichen Zeitfenster in der Verbalen Paarerkenkung II. Der Wechsler Gedächtnistest endete mit der Aufgabe (Visuelle Wiedergabe II) die gezeigten Figuren aus der Visuellen Wiedergabe I erneut aufzuzeichnen.

4.3.3 Auswertung des WMS-R

Zur Auswertung wurde das Testmanual herangezogen (Härting et al., 2000), in dem die Mittelwerte und Standardabweichungen für die einzelnen Subtests angegeben sind. Diese Werte wurden anhand einer Stichprobe von 210 Probanden im Alter von 15 bis 74 Jahren ermittelt. Diese Stichprobe wurde in sieben Altersgruppen eingeteilt, die jeweils aus 30

Material und Methoden

Personen bestand. Dabei war das Geschlechter- und Bildungsverhältnis in den sieben Gruppen gleich verteilt. Aus dieser Stichprobe ließen sich Mittelwerte für die Subtests und Leistungsaspekte der WMS-R entnehmen. Die Rohwerte der vorliegenden Stichprobe wurden in gewichtete Rohwerte umgewandelt und zu den fünf normierten Indizes verbales und visuelles Gedächtnis, Aufmerksamkeit / Konzentration, sowie verbale verzögerte und visuelle verzögerte Wiedergabe zusammengefasst (Tabelle 5).

Tabelle 5: Auswertungsmatrix der Subtests zu den Leistungsmerkmalen des Gedächtnisses

WMS-R Subtest	Merkmal der Gedächtnisleistung	Maximale Punktzahl	Mittelwert der Gesamtstichprobe
Logisches Gedächtnis (50 Punkte - doppelt gewichtet)	Verbales Gedächtnis	124	79,50
Verbale Paarererkennung (24 Punkte - einfach gewichtet)			
Figurales Gedächtnis (10 Punkte – einfach gewichtet)	Visuelles Gedächtnis	69	55,35
Visuelle Paarererkennung I (18 Punkte - einfach gewichtet)			
Visuelle Wiedergabe I (41 Punkte - einfach gewichtet)			
Mentale Kontrolle (6 Punkte - einfach gewichtet)	Aufmerksamkeit / Konzentration	102	68,93
Zahlenspanne (24 Punkte - doppelt gewichtet)			
Blockspanne (24 Punkte - doppelt gewichtet)			
Logische Gedächtnis II (50 Punkte - einfach gewichtet)	Verbale verzögerte Wiedergabe	66	23,70
Verbale Paarererkennung II (8 Punkte - doppelt gewichtet)			
Visuelle Paarererkennung II (6 Punkte - doppelt gewichtet)	Visuelle verzögerte Wiedergabe	53	21,18
Visuelle Wiedergabe II (41 Punkte - einfach gewichtet)			

Der Wechsler Gedächtnistest berücksichtigt in der Auswertung demografische Faktoren, wie zum Beispiel das Alter, die auf die mnestischen Funktionen einen signifikanten Einfluss haben. So wird das Potential der Gedächtnisleistung in sieben Altersgruppen, von 15 bis 74 Jahren, klassifiziert, für die einzelne Indizes gelten. Obgleich auch die Schulbildung als signifikantes Merkmal bei Gedächtnisleistungen angesehen wird, fließt der Bildungsgrad lediglich mit einer zusätzlichen Normentabelle für Abiturienten in die Auswertung mit ein. Diese flache Systematik musste bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden. Geschlechtsspezifisch konnten keinen signifikanten Einflüsse auf Gedächtnisleistungen im WMS-R nachgewiesen werden (Härting et al., 2000).

4.4 Labormethoden

Für die Genotypisierung des Einzelnucleotidpolymorphismus Val⁶⁶Met im BDNF Gen wurde ein Hochdurchsatzverfahren gewählt, das eine konventionelle Polymerasekettenreaktion (PCR) mit einer Einzelbasenverlängerung und anschließender massenspektrometrischer Messung in einem MALDI-TOF (*matrix assisted laser desorption adsorption, time of flight*) Massenspektrometer kombiniert. Für dieses Verfahren wurde genomische DNA von hoher Qualität benötigt. Die im Folgenden beschriebenen Methoden folgten den Standardprotokollen der Arbeitsgruppe molekulare und klinische Neurobiologie.

4.4.1 DNA-Extraktion

Für die Gewinnung genomischer DNA wurde jedem Studienteilnehmer 5 – 10ml venöses Blut in EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nürnberg) entnommen. Der Zusatz an EDTA inhibierte dabei die Blutgerinnung. Bis zur DNA-Extraktion wurden die Blutproben bei -80°C gelagert. Die DNA-Isolierung erfolgte nach dem Standardprotokoll des *QiaAmp Maxi Kit* (Qiagen, Hilden). Dazu wurde zunächst das gefrorene Blut bei Raumtemperatur aufgetaut und mit 500µl Qiagen Protease versetzt. Dieses Protease erleichtert die DNA-

Material und Methoden

Isolierung indem sie die an die Nukleinsäuren gebundenen Proteine, wie zum Beispiel die Histone, abbaut und so die Zugängigkeit der DNA verbessert. Außerdem wurden 12ml des guanidiniumhydrochloridhaltigen Lysepuffers AL zu dem Blut-Protease-Gemisch gegeben und für 60s auf einem Vortexer gründlich gemischt. Für eine optimale Zelllyse und maximalen DNA-Ertrag wurde das Gemisch für 30min bei 70°C in einem Wasserbad inkubiert.

Um die DNA für die Bindung an die QiaAmp-Säule, einer Silikagelmembran, vorzubereiten, wurden 10ml Ethanol zugegeben und erneut gemischt. Die so entstandene Lösung wurde im Anschluss in mehreren Zentrifugationsschritten (3min bei 3000rpm) auf die Silikagelmembran gegeben und der Durchfluss jeweils verworfen. Die im Lyspuffer herrschenden Salz- und pH-Bedingungen sorgen dabei dafür, dass nur DNA an die Membran binden kann, während RNA und Proteine ungebunden bleiben.

Um verbleibende Verunreinigungen aus der Membran zu waschen wurden in einem ersten Reinigungsschritt 5ml Puffer AW1 auf die Membran gegeben und für 2min bei 4000rpm zentrifugiert. In einem zweiten Waschschrift mit 5ml Puffer AW2 wurden verbleibende Guanidiniumhydrochlorid-Salze vollständig entfernt. Um auch Ethanolrückstände zu entfernen wurde die Membran für 15min bei 4000rpm zentrifugiert und so getrocknet. Damit war die aufgereinigte DNA bereit für die Elution. Durch zweimalige Inkubation mit insgesamt 1,5ml Elutionspuffer AE und anschließende Zentrifugation (2min bei 5000rpm) wurde eine maximale Menge an DNA erreicht. Die so erhaltene DNA-Lösung wurde bis zum Gebrauch bei -80°C gelagert.

4.4.2 Konzentrationsmessung der DNA

Da die DNA-Lösungen in unterschiedlicher Konzentration vorlagen, war eine Einstellung auf einen einheitlichen Wert nötig. Für die in dieser Arbeit verwendete Genotypisierungsmethode wurden DNA-Lösungen mit einer einheitlichen Konzentration von 50ng/µl erstellt, die dann unmittelbar vor dem Einsatz noch mal um den Faktor 10 auf 5ng/µl verdünnt wurden. Um die Konzentrationen der einzelnen DNA-Lösungen zu

Material und Methoden

ermitteln, wurde der Farbstoff *PicoGreen* (Invitrogen, Karlsruhe) eingesetzt. Dieser interkaliert selektiv in doppelsträngige DNA und bildet einen Farbstoff-Nukleinsäure-Komplex, der bei Anregung durch Licht mit der Wellenlänge 480nm selbst Licht der Wellenlänge 520nm aussendet. Dabei ist die Menge der ausgesendeten Lichtquanten direkt abhängig von der Menge an vorhandener DNA.

Um die DNA-Konzentration zu ermitteln, wurde eine Standardkurve mit bekannten Konzentrationen erstellt. Dazu wurde eine 1:2 Verdünnungsreihe eines DNA-Standards mit der Konzentration 100ng/μl (Clontech, Mountain View) verwendet. In die Vertiefung A1 einer *Thermo fast 96well plate* (ABgene, Hamburg) wurden 200μl des DNA-Standards vorgelegt. Die Vertiefungen B1 bis H1 wurden mit 100μl Wasser befüllt. Aus der Vertiefung A1 wurden darauf 100μl entnommen und in B1 einpipettiert und gemischt. Aus dieser Verdünnung wurden dann wiederum 100μl entnommen und in die Vertiefung C1 gegeben und gemischt. Mit dieser Verdünnungsreihe wurde bis zur Vertiefung G1 fortgefahren, während in der Vertiefung H1 keine DNA eingefüllt wurde und so als Referenzwert dienen konnte (Tabelle 6).

Tabelle 6: Standardverdünnungsreihe zur Konzentrationsbestimmung

Position	Volumen	Konzentration an genomischer DNA
A1	100μl	100ng/μl
B1	100μl	50ng/μl
C1	100μl	25ng/μl
D1	100μl	12,5ng/μl
E1	100μl	6,25ng/μl
F1	100μl	3,175ng/μl
G1	200μl	1,5262ng/μl
H1	100μl	0

Für die eigentliche Konzentrationsmessung wurden sowohl die Standardverdünnungsreihe als auch die zu messenden DNA-Lösungen in Duplikaten gemessen. Mit dieser Vorgehensweise konnten Messfehler vermieden werden. Alle nötigen Pipettierschritte und

Material und Methoden

Kalkulationen wurden von einem Roboter durchgeführt (*Janus Automated Workstation*, Perkin Elmer, Massachusetts).

In eine *96well flat bottom plate* (Greiner, Frickenhausen) wurden in die Spalten 1 und 2 jeweils 5µl der Standardverdünnungsreihe übertragen. In die verbleibenden Vertiefungen wurden die DNA-Lösungen in einer 1:10 Vorverdünnung als Duplikate vorgelegt. Unmittelbar vor der Messung wurden 145µl einer *PicoGreen* Lösung zugegeben, so dass eine Endverdünnung des Farbstoffs von 1:200 erreicht wurde.

Mithilfe eines Greifarms wurde die nun fertige Messplatte in ein Photometer (*Victor 3 Multilabel Counter 1420*, Perkin Elmer, Massachusetts) überführt und 30s geschüttelt, um eine Vermischung der DNA mit der *PicoGreen* Lösung zu gewährleisten. Die Anregung des Farbstoffkomplexes erfolgte bei 485nm und die Fluoreszenzmessung bei 520nm. Mithilfe eines Computers (*Optiplex GX620 Pentium 4 HAT*, Dell, Frankfurt) wurden anhand der Standardkurve die DNA-Konzentrationen vollautomatisch ermittelt und die Konzentrationseinstellung berechnet. Anhand der berechneten Werte führte der Pipettierroboter die Konzentrationseinstellung vollautomatisch auf 50ng/µl durch.

4.4.3 Genotypisierung mit dem iPLEX-Verfahren

Nach der Vorbereitung der Proben DNAs konnte nun die eigentliche Genotypisierung erfolgen. Dazu wurde in der vorliegenden Arbeit das iPLEX-Verfahren der Firma Sequenom (Hamburg) durchgeführt. Diese Methode basiert im Wesentlichen auf drei Schritten:

1. einer konventionellen PCR mit anschließender Dephosphorylierung überschüssiger Nukleotide
2. einer Einzelbasenextensionsreaktion
3. der Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer

4.4.3.1 Die konventionelle PCR

In der konventionellen Polymerasekettenreaktion (PCR) werden kurze genomische Bereiche um die zu genotypisierenden Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP) herum amplifiziert, um damit ausreichend Ausgangsmaterial für die Extensionsreaktion zu generieren. Dazu werden kurze Oligonucleotide (Primer) so entworfen, dass ein kurzer Bereich (ca. 100 Basenpaare) um den SNP herum amplifiziert wird. Die Primer für den SNP Val⁶⁶Met (rs6265) wurden mit Hilfe der Software MassARRAY Assay Design 3.0 (Sequenom, Hamburg) entworfen (Tabelle 7).

Tabelle 7: Sequenzen der PCR-Primer für den SNP Val⁶⁶Met (rs6265)

	PCR-Primer
Forward Primer	ACGTTGGATGTTTTCTTCATTGGGCCGAAC
Reverse Primer	ACGTTGGATGGCTTGACATCATTGGCTGAC

Zunächst wurde in einer 384well plate (ABgene, Hamburg) mit Hilfe eines Pipettierroboters (*Microlab MPH 96*, Firma Hamilton, Reno) 2,5µl genomische DNA in einer Konzentration von 5ng/µl vorgelegt. Danach wurden 3µl eines zuvor erstellten Reaktionsgemisches zu der genomischen DNA gegeben (Tabelle 8).

Tabelle 8: Reaktionsgemisch für die Polymerase Kettenreaktion

Reagenz	Volumen in einer Reaktion (incl. 25% Überhang)	Hersteller
Wasser	1,850µl	---
10xPCR-Puffer	0,625µl	Firma Qiagen, Hilden
MgCl ₂ 25m/M	0,325µl	Firma Qiagen, Hilden
dNTP Mix, 25m/M	0,100µl	Firma ABgene, Hamburg
PCR-Primer Mix	1,000µl	Firma Metabion, Martinsried
Hotstar Taq Polymerase 5U/µl	0,100µl	Firma Qiagen, Hilden
Total	4,000µl	

Material und Methoden

In einem *Thermocycler* (Applied Biosystems, Foster City) wurde die fertige Reaktionsplatte folgenden Temperaturschritten unterzogen:

1. Initiale Denaturierung (15min bei 95°C).
2. Denaturierung (20s bei 95°C): bei diesen hohen Temperaturen dissoziieren die DNA-Doppelstränge in Einzelstränge. Dies ist die Voraussetzung für die Anlagerung der Primer im folgenden Schritt.
3. *Annealing* (30s bei 56°C): eine Abkühlung auf 56°C bewirkt, dass die spezifischen Primer an die DNA-Einzelstränge anlagern können.
4. Elongation (60s bei 72°C): nach Anlagerung der Primer wird die Temperatur auf das Arbeitsoptimum der Taq-Polymerase erhöht. Diese fügt dann die Primer an die der DNA komplementären Basen an und verdoppelt so die Menge an Amplikon.
5. Finale Elongation (3min bei 72°C): vor Abschluss der PCR kann die Taq-Polymerase noch nicht vollständige Amplikons fertig verlängern.

Die Schritte 2. bis 4. wurden 45 Mal wiederholt. So konnte ausreichend Amplikonmenge für die nachfolgende Primerextension zur Verfügung gestellt werden. Nach Abschluss der PCR wurden die Reaktionsprodukte auf 4°C abgekühlt und danach bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C gelagert.

4.4.3.2 Dephosphorylierung mit SAP

In der PCR wurden für die Vervielfältigung der den SNP flankierenden DNA eine große Menge an Desoxynucleotiden (dNTPs) eingesetzt. In der nachfolgenden Extensionsreaktion würden diese dNTPs aber zu verfälschten Ergebnissen führen, so dass sie inaktiviert werden mussten. Dazu wurde das Enzym *shrimp alkaline phosphatase* (SAP) verwendet, das in der Lage ist freie dNTPs zu dephosphorylieren und dadurch für das später eingesetzte iPLEX Enzym unzugänglich zu machen. Für die SAP-Reaktion wurden jeweils 2µl des SAP-Mastermix zu den PCR-Reaktionsprodukten gegeben (Tabelle 9):

Tabelle 9: Mastermix für die SAP-Behandlung

Reagenz	Volumen für 1 Reaktion (incl. 25% Überhang)	Hersteller
Wasser	1,530µl	Sequenom, Hamburg
10x SAP Buffer	0,170µl	Sequenom, Hamburg
SAP-Enzym	0,300µl	Sequenom, Hamburg
Total	2,000µl	

Die Reaktionsgemische wurden erneut in einem *Thermocycler* zunächst 40min bei 37°C inkubiert – dem Temperaturoptimum des SAP-Enzyms. Im Anschluss wurde das SAP-Enzym für 10min bei 85°C inaktiviert.

4.4.3.3 Einzelbasenextensionsreaktion (iPLEX-Reaktion)

Im Anschluss an die SAP-Behandlung konnten die PCR-Produkte für die Einzelbasenextensionsreaktion verwendet werden. Dazu musste ein spezieller Extendprimer entworfen werden, der unmittelbar neben den zu untersuchenden SNP Val⁶⁶Met (rs6265) an das PCR-Produkt anlagerte (Tabelle 10). Dazu wurde ebenfalls das Programm MassARRAY Assay Design 3,0 (Sequenom, Hamburg) verwendet.

Tabelle 10: Extendprimer für die Einzelbasenextensionsreaktion

	Extendprimer
Val⁶⁶Met (rs6265)	CCCCAACAGCTCTTCTATCA

Für diese Extensionsreaktion wurden Didesoxynucleotide (ddNTP) verwendet. Diese modifizierten Nucleotide haben die Eigenschaft, dass sie von einer Polymerase zwar an den Extendprimer angefügt werden können, danach bricht die Elongation aber ab. Somit kann der Extendprimer immer nur um eine einzige Base verlängert werden, die genau dem komplementären Allel des SNPs entspricht. Für einen biallelischen SNP sind somit nur zwei unterschiedliche Extendprodukte möglich, die sich allelspezifisch durch ihre Masse

Material und Methoden

unterscheiden. Diese Massen können später dann im MALDI-TOF Massenspektrometer vermessen werden und so die eigentlichen Genotypen eines jeden Probanden bestimmt werden. Für die Einzelbasenextensionsreaktion wurden zu den aufgereinigten PCR-Produkten jeweils 2µl des iPLEX Reaktionscocktails gegeben (Tabelle 11).

Tabelle 11: Zusammensetzung des iPLEX-Reaktionscocktails

Reagenz	Volumen für eine Reaktion	Hersteller
Wasser	0,755µl	---
iPLEX Buffer Plus	0,200µl	Sequenom, Hamburg
iPLEX Termination Mix	0,200µl	Sequenom, Hamburg
Primer Mix	0,804µl	Sequenom, Hamburg
iPLEX Enzym	0,041µl	Sequenom, Hamburg
Total	2,000µl	

In einem Thermocycler wurden die Proben in folgendem Doppelschleifenprogramm prozessiert:

94°C für 30sec		
94°C für 5sec	} 5 Zyklen	} 40 Zyklen
52°C für 5sec		
80°C für 5sec		
72°C für 30min		

4.4.3.4 Messung im MALDI-TOF Massenspektrometer

Um die Proben nach der Einzelbasenextensionsreaktion für die Messung im MALDI-TOF Massenspektrometer vorzubereiten, mussten die Extensionsprodukte entsalzt werden. Durch die Behandlung mit *Clean Resin* (Sequenom, Hamburg), einem Ionenaustauscherharz, wurden Natrium- und Kaliumionen entfernt, die eine Analyse im Massenspektrometer erschwert hätten.

Material und Methoden

Für die Genotypisierung wurden Siliziumchips verwendet (Spectrochips, Sequenom, Hamburg), die mit 384 Matrixpunkten vorpräpariert waren. Diese Matrix bestand aus 3-Hydroxypicolinsäure, einer Substanz, die das Auskristallisieren des Analyten verhindert und die Anregung durch Laserbeschuss erleichtert.

Eine geringe Menge der entsalzten Extensionsprodukte wurde mit Hilfe des *MassARRAY Point Nanodispensers* (Sequenom, Hamburg) auf einen Siliziumchip in die Matrix eingebracht und getrocknet. Außerdem wurden acht zusätzliche Matrixpunkte mit einem *3 Point Calibrant* (Sequenom, Hamburg) versehen, die zur Kalibrierung des Massenspektrometers dienten.

Nachdem der Chip in eine Hochvakuumkammer des *MassARRAY* Massenspektrometers (Firma Sequenom, Hamburg) eingeschleust wurde, wurde jeder einzelne Matrixpunkt mit kurzen Laserimpulsen beschossen. Dabei erfolgte eine Ionisierung der Extensionsprodukte. Die so entstandenen, hauptsächlich einfach positiv geladenen Ionen wurden mit Hilfe eines Magnetfeldes beschleunigt und trafen dann auf einen Detektor auf, wo sie registriert wurden. Dabei trafen leichtere Ionen früher auf den Detektor auf als schwerere Ionen, was eine Unterscheidung der Extensionsprodukte nach ihren spezifischen Massen ermöglichte.

4.5 Statistische Auswertung

Bei den statistischen Auswertungen der Genotypen- und Allelverteilung wurde die Software *Statistical Package for Social Sciences 15.0* (SPSS Inc., Chicago) verwendet. Die Verteilung der Genotypen wurde anhand des χ^2 -Tests auf die Kriterien des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts untersucht. Eine signifikante Abweichung von diesem Gleichgewicht führte zum Ausschluss der Ergebnisse. Im Vordergrund des Interesses standen die Verteilungsdifferenzen von Genotypen und Allelen zwischen den Patienten und den Kontrollprobanden. Als Signifikanzniveau wurde ein p – Wert von 0,05 und kleiner angenommen. Von einem Trend wurde ab $p < 0,1$ ausgegangen.

5 Ergebnisse

5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

An der Assoziationsstudie nahmen 137 schizophrene Patienten und 333 gesunde Kontrollpersonen teil. Dabei wurde untersucht ob eine Assoziation zwischen dem Einzel-Nukleotid-Polymorphismus rs6265 mit der Schizophrenie besteht.

5.1.1 Genotypverteilung

Der Genotyp GG war mit mehr als zwei Dritteln der Personen in der Untersuchungsreihe am häufigsten vertreten (Tabelle 12).

Tabelle 12: Genotypverteilung des SNP rs6265 in der untersuchten Stichprobe

Gruppe	Genotyp AA n (%)	Genotyp AG n (%)	Genotyp GG n (%)	Gesamt n
Patienten	8 (5,8)	35 (25,5)	94 (68,6)	137
Kontrollen	13 (3,9)	113 (33,9)	207 (62,2)	333
Gesamt	21 (4,5)	148 (31,5)	301 (64,0)	470

Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) wurde erfüllt. Nachfolgend die Ergebnisse des HWG im Einzelnen:

Patienten: $F = 0,157$; $p = 0,067$

Kontrollen: $F = -0,027$; $p = 0,617$

Gesamtstichprobe: $F = 0,024$; $p = 0,607$

Die Zahlenwerte ergaben keinen signifikanten Unterschied in der Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen ($\chi^2 = 3,613$; $df = 2$; $p = 0,164$). Zur weiteren

Ergebnisse

Differenzierung wurde überprüft, ob der Besitz eines der beiden Allele überzufällig häufig in einer der beiden Gruppen vorkam. Dazu wurden zunächst die Träger der A-Allele (Genotypen AA und AG) den Nicht-A-Allelträgern (GG) gegenübergestellt (Tabelle 13):

Tabelle 13: Gegenüberstellung der A- und Nicht-A-Allelträger

Gruppe	A-Allelträger (AA + AG) n (%)	Nicht-A-Allelträger (GG) n (%)	Gesamt n
Patienten	43 (31,4)	94 (68,6)	137
Kontrollen	126 (37,8)	207 (62,2)	333
Gesamt	169 (36,0)	301 (64,0)	470

Auch hier konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden ($\chi^2 = 1,754$; $df = 1$; $p = 0,185$; odds ratio = 1,331 (CI = 0,871 – 2,032)). Analog hierzu wurden auch die Träger des G-Allels (Genotypen GG und AG) den Nicht-G-Allelträgern (AA) gegenübergestellt (Tabelle 14):

Tabelle 14: Gegenüberstellung der G- und Nicht-G-Allelträger

Gruppe	G-Allelträger (GG + AG) n (%)	Nicht-G-Allelträger (AA) n (%)	Gesamt n
Patienten	129 (94,2)	8 (5,8)	137
Kontrollen	320 (96,1)	13 (3,9)	333
Gesamt	449 (95,5)	21 (4,5)	470

In der Verteilung der Allelträger zeigte sich keine signifikante Assoziation mit einer der untersuchten Gruppen ($\chi^2 = 0,852$; $df = 1$; $p = 0,356$; odds ratio = 0,655 (CI = 0,265 – 1,618)).

Ergebnisse

5.1.2 Allelverteilung

Bei der Allelverteilung (Tabelle 15) zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollprobanden ($\chi^2 = 0,614$; $df = 1$; $p = 0,443$; odds ratio = 1,153 (CI = 0,807 – 1,648)).

Tabelle 15: Allelverteilung des SNP rs6265

Gruppe	Allel A n (%)	Allel G n (%)	Gesamt n
Patienten	51 (18,6)	223 (81,4)	274
Kontrollen	139 (20,9)	527 (79,1)	666
Gesamt	190 (20,2)	750 (79,8)	940

5.2 Endophänotypenstudie

Neben einer möglichen Assoziation mit der Erkrankung an Schizophrenie sollte auch eine mögliche Assoziation mit Gedächtnisleistungen untersucht werden. Dazu wurde eine Endophänotypenstudie angesetzt. Für diese Studie wurde ein Subset aus 448 Studienteilnehmern ausgewählt, das aus 135 schizophrenen Patienten und 313 gesunden Kontrollprobanden bestand. Es kam eine umfassende Testbatterie zum Einsatz, unter anderem auch der *Wechsler-Gedächtnistest – revidierte Fassung (WMS-R)*.

5.2.1 Gedächtnisleistung und Genotypverteilung

Um zu überprüfen, ob ein bestimmter Genotyp mit einer besseren Leistung im WMS-R assoziiert war, wurden die durchschnittlichen Leistungen der drei Genotypen miteinander verglichen (Tabelle 16).

Ergebnisse

Tabelle 16: durchschnittlich erreichte Punktwerte in Abhängigkeit vom rs6265-Genotyp

WMS-R Untertest	AA (n=20) MW (SD)	AG (n=139) MW (SD)	GG (n=289) MW (SD)	F	df	p
Verbales Gedächtnis	81,25 (13,09)	78,66 (17,63)	79,78 (16,72)	3,251	2/434	0,040
Visuelles Gedächtnis	52,70 (9,78)	55,66 (8,62)	55,38 (8,19)	0,395	2/434	0,674
Aufmerksamkeit / Konzentration	68,50 (11,43)	69,14 (12,47)	68,86 (12,02)	0,523	2/434	0,593
Verbale verzögerte Wiedergabe	22,88 (2,88)	23,70 (4,84)	23,76 (4,59)	0,832	2/434	0,436
Visuelle verzögerte Wiedergabe	20,53 (4,18)	21,28 (4,09)	21,17 (3,81)	0,326	2/434	0,722

MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, F = Inzuchtkoeffizient, df= Freiheitsgrade

Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Untertest „Verbales Gedächtnis“ und dem vorliegenden Genotypen ($F = 3,251$; $df = 2/434$; $p = 0,040$). Die Träger des AA-Genotypen erreichten dabei den höchsten Punktwert (Abbildung 10).

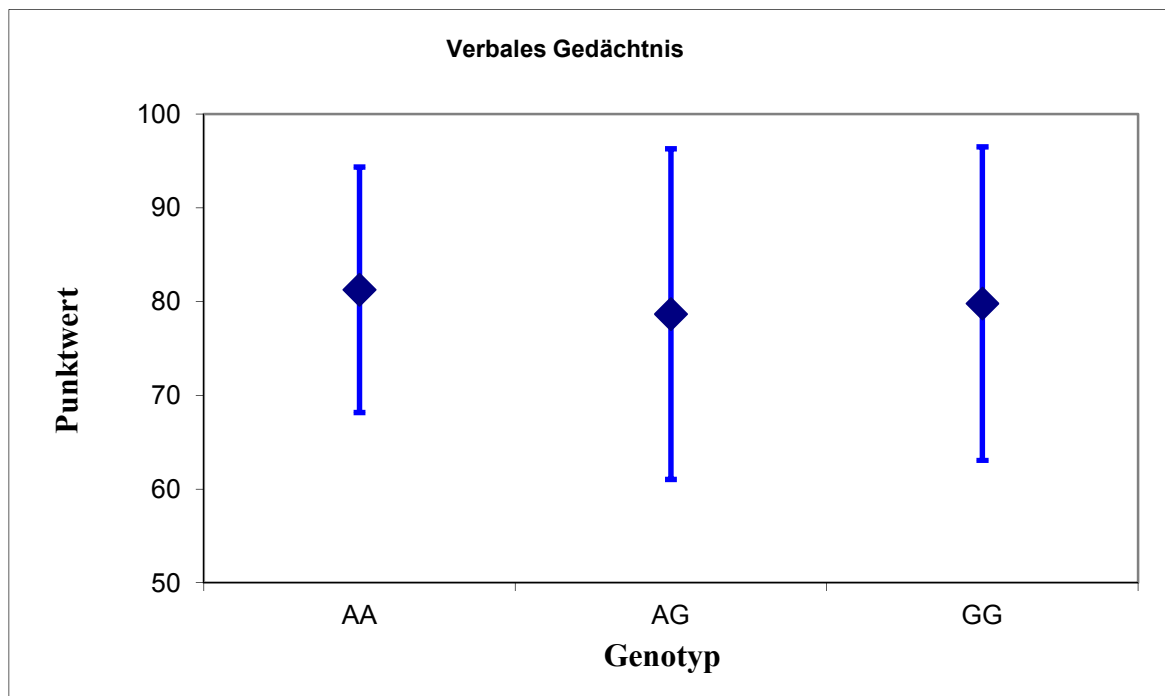


Abbildung 10: Leistungen im Subtest Verbales Gedächtnis in Abhängigkeit des Genotyps.

Keiner der anderen Untertests war mit der Genotypverteilung assoziiert. Zur weiteren Differenzierung wurde überprüft, ob der Besitz einer der beiden Allele einen signifikanten

Ergebnisse

Einfluss auf die Gedächtnisleistung im WMS-R hat. Dazu wurden zunächst die A-Allelträger den Nicht-A-Allelträgern gegenübergestellt (Tabelle 17):

Tabelle 17: Leistungen der A- und Nicht-A-Allelträger.

WMS-R Untertest	AA + AG (n=159) MW (SD)	GG (n=289) MW (SD)	F	df	p
Verbales Gedächtnis	78,99 (17,12)	79,78 (16,72)	0,239	1/438	0,625
Visuelles Gedächtnis	55,29 (8,79)	55,38 (8,19)	0,85	1/438	0,357
Aufmerksamkeit / Konzentration	69,06 (12,31)	68,86 (12,02)	0,1	1/438	0,752
Verbale verzögerte Wiedergabe	23,60 (4,64)	23,76 (4,57)	0,452	1/438	0,502
Visuelle verzögerte Wiedergabe	21,19 (4,10)	2,17 (3,81)	0,452	1/438	0,546

MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, F = Inzuchtkoeffizient, df= Freiheitsgrade

Der Besitz des A-Allels des Polymorphismus rs6265 hatte keinen signifikanten Einfluss auf die erreichten Punktwerte im WMS-R. Analog dazu wurden die erreichten Gedächtnisleistungen der einzelnen Untertests der G-Allelträger den Nicht-G-Allelträgern gegenübergestellt (Tabelle 18):

Tabelle 18: Leistungen der G- und Nicht-G-Allelträger in der untersuchten Stichprobe.

WMS-R Untertest	GG + AG (n=428) MW (SD)	AA (n=20) MW (SD)	F	df	p
Verbales Gedächtnis	79,42 (17,01)	81,25 (13,09)	3,243	1/438	0,072
Visuelles Gedächtnis	55,47 (8,32)	52,70 (9,78)	0,011	1/438	0,918
Aufmerksamkeit / Konzentration	68,95 (12,15)	68,50 (11,43)	0,73	1/438	0,393
Verbale verzögerte Wiedergabe	23,74 (4,66)	22,87 (2,88)	0,007	1/438	0,935
Visuelle verzögerte Wiedergabe	21,20 (3,90)	20,525 (4,18)	0,104	1/438	0,748

MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, F = Inzuchtkoeffizient, df= Freiheitsgrade

Ergebnisse

Der Besitz des G-Allels des Polymorphismus rs6265 hatte keinen signifikanten Einfluss auf die erreichten Punktwerte im WMS-R. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen zum signifikanten Zusammenhang zwischen dem AA-Genotyp und besserer Punktzahl im Untertest „Verbales Gedächtnis“ zeigte sich aber ein Trend zur Assoziation. Dabei hatten die Nicht-G-Allelträger im Durchschnitt eine bessere Leistung als G-Allelträger (Abbildung 11):

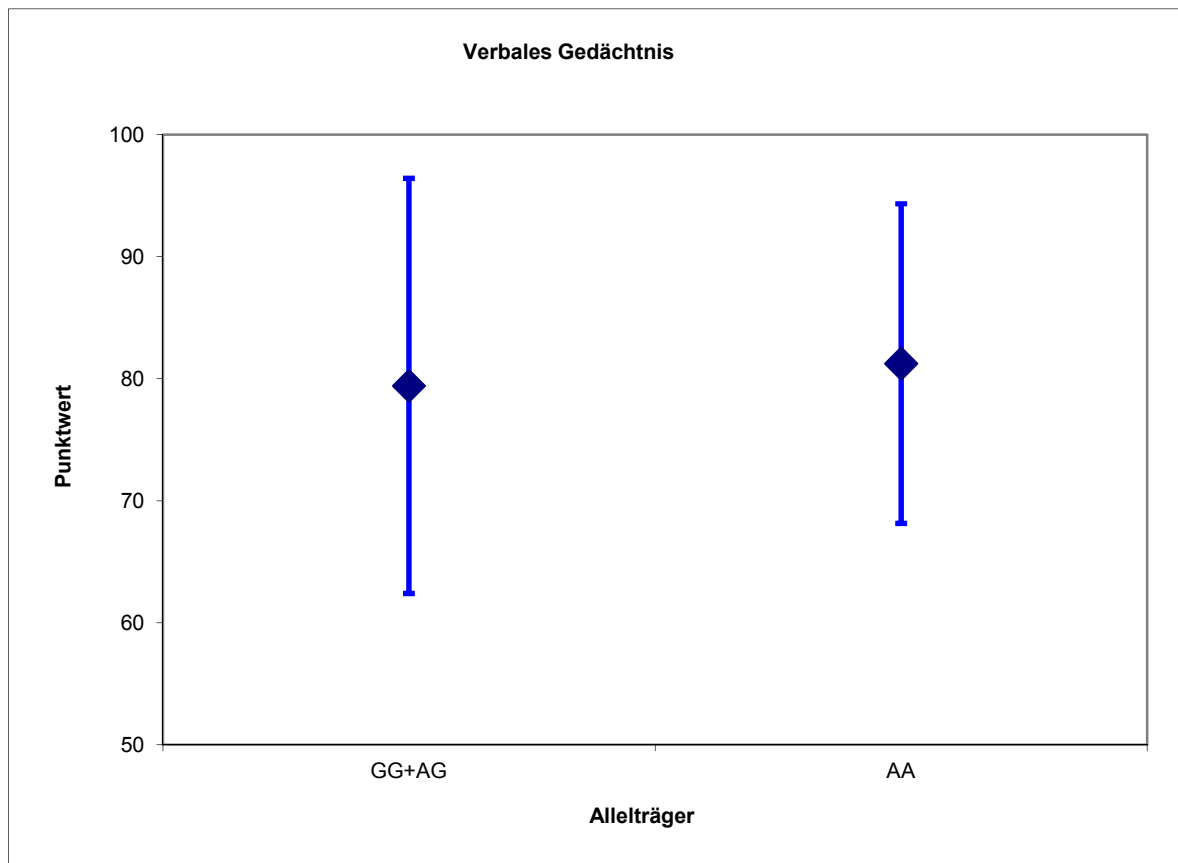


Abbildung 11: Darstellung der erbrachten durchschnittlichen Leistungen im Untertest „Verbales Gedächtnis“ in Abhängigkeit des Vorhandenseins des G-Allels des rs6265.

5.2.2 Gedächtnisleistung und Allelverteilung

Um zu überprüfen, ob eines der Allele des rs6265 mit einer besseren Gedächtnisleistung einherging, wurden die im WMS-R erreichten Punktwerte der beiden Allele miteinander verglichen (Tabelle 19):

Ergebnisse

Tabelle 19: Durchschnittlich erzielte Punktwerte in Abhängigkeit der Allelausprägung des rs6265.

WMS-R Untertest	A-Allele (n=179) MW (SD)	G-Allele (n=717) MW (SD)	F	df	p
Verbales Gedächtnis	79,24 (16,99)	79,56 (16,89)	0,444	1/886	0,505
Visuelles Gedächtnis	55,00 (8,92)	55,44 (8,26)	0,844	1/886	0,358
Aufmerksamkeit / Konzentration	69,00 (12,19)	68,91 (12,09)	0,01	1/886	0,978
Verbale verzögerte Wiedergabe	23,52 (4,473)	23,75 (4,63)	0,037	1/886	0,847
Visuelle verzögerte Wiedergabe	21,11 (4,10)	21,19 (3,86)	0,194	1/886	0,66

6 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob eine Assoziation des funktionellen Polymorphismus rs6265 (Val⁶⁶Met) des BDNF-Gens mit Schizophrenie vorliegt. Darüber hinaus wurde die Testreihe ausgewertet, ob eine Assoziation zwischen diesem SNP und kognitiven Leistungen nachzuweisen ist. Hierzu wurden zum einen die Genotyp- und Allelfrequenzen der teilnehmenden schizophrenen Patienten und Kontrollprobanden analysiert. Zum anderen wurden kognitive Leistungen der Studienteilnehmer mittels des WMS-R Wechsler Gedächtnistests dahingehend untersucht, ob hinsichtlich ihres Genotyps und/oder ihrer Allel-Trägerschaft abweichende Merkmale vorliegen.

Im Ergebnis konnte bei der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie keine Assoziation zwischen dem Val⁶⁶Met-Polymorphismus und Schizophrenie nachgewiesen werden.

In Bezug auf die kognitiven Leistungen, zeigten bei der Endophänotypenstudie die Met-Homozygoten Genotypen signifikant bessere Leistungen im Untertest „Verbales Gedächtnis“. Entsprechend hierzu führte das Fehlen des G-Allels (Val) zu signifikant besseren Leistungen im Untertest „Verbales Gedächtnis“.

6.1 Diskussion der Methoden

6.1.1 Ethnische Abstammung der Studienteilnehmer

Bei einer genetischen Studie ist eine homogene ethnische Abstammung von essenzieller Bedeutung. Durch Populationsstratifikation kann es in den Untersuchungen zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen kommen (Lander und Schork, 1994), da in verschiedenen ethnischen Populationen die Genotyp- und Allelfrequenzen von Einzel-Nukleotid-Polymorphismen variieren. (Tabelle 20).

Tabelle 20: Darstellung der Allel- und Genotypverteilung des rs6265 in verschiedenen Populationen (Hapmap, 2010)

	A (Met)	G (Val)	AA	AG	GG
Vorliegende Stichprobe	20,2%	79,8%	4,5%	31,5%	64,0%
CEU ⁽¹⁾	17,5%	82,5%	3,3%	28,3%	68,3%
HCB ⁽²⁾	63,1%	36,9%	45,2%	35,7%	19,0%
JPT ⁽³⁾	33,7%	66,3%	16,3%	34,9%	48,8%
YRI ⁽⁴⁾	0%	100%	0%	0%	100%

CEU =Europäer (Bewohner von Utah, westeuropäischer Herkunft); HCB = Han Chinesen (Peking); JPT – Japaner (Tokyo); YRI = Afrikaner

Die Daten des HapMap Projekts zum rs6265 zeigen, dass die Allel- und Genotypfrequenzen zwischen den einzelnen Populationen stark schwanken. Während bei Afrikanern kein Basenaustausch stattfindet und nur Val-Allel-Träger vorkommen, sind 63,1% der Han Chinesen Träger der Met-Allele und damit etwa dreimal so viel wie bei Personen europäischer Abstammung. Diese Differenzen beim rs6265 verdeutlichen wie wichtig bei diesem SNP eine homogene Stichprobe ist. Um eine größtmögliche Homogenität bei der ethnischen Abstammung zu erreichen, wurden in der vorliegenden Studie nur Kaukasier eingeschlossen, deren Abstammung sich auf mindestens drei Generationen nachvollziehen ließ. Die Allel- und Genotypverteilung kommt den Daten des HapMap Projektes für die Westeuropäer sehr nahe, was für die Validität der Resultate und für die Vergleichbarkeit der vorliegenden Studie mit anderen europäischen Untersuchungen spricht.

6.1.2 Rekrutierungsverfahren und Einschlusskriterien

Alle Teilnehmer der vorliegenden Studie wurden nach einem stringenten Verfahren ausgewählt, um homogene und vergleichbare Gruppen zu gewährleisten und um Auswirkungen auf die Untersuchungsergebnisse durch Differenzen in den Einschlusskriterien weitestgehend zu vermeiden. Die schizophrenen Patienten durchliefen

Diskussion

eine Diagnosestellung gemäß DSM-IV, um schizoaffektive oder rein psychotische Patienten auszuschließen. Darüber hinaus wurden im Patientenkollektiv nur Personen ausgewählt, deren kaukasische Ethnizität sich auf drei Generationen zurückverfolgen ließ. Wie bereits verdeutlicht, kann die Allel- und Genotypverteilung in unterschiedlichen Ethnizitäten stark variieren und könnte bei weniger strengen Einschlusskriterien womöglich die Ergebnisqualität beeinflussen.

Auch bei den Kontrollprobanden wurden strenge Einschlusskriterien angewandt. Durch ein mehrstufiges Verfahren mit einer vorab durchgeführten Anamneseerhebung, einer körperlichen und neurologischen Untersuchung, dem Strukturierten Klinischen Interview Teil I und II, sowie dem *Family History Assessment Modul* wurde sichergestellt, dass bei diesem Personenkreis keine psychiatrischen oder somatischen Erkrankungen vorlagen und sie aus psychiatrischer Sicht als unbelastet eingestuft werden konnten. Bei Kontrollprobanden, die das sechzigste Lebensjahr bereits vollendet hatten, wurde dies zusätzlich mit dem *Mini Mental Status Test* sichergestellt.

Die angewandten Einschlusskriterien führten dazu, dass das Gesamtvolumen der Studienteilnehmer eingeschränkt wurde.

Bei der Auswahl der Studienteilnehmer wurde keine Selektion bezüglich der Schulbildung, des Alters oder des Geschlechts durchgeführt. In der vorliegenden Stichprobe ist der Anteil der Personen, die einen hohen Schulabschluss haben im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung höher (37,6% versus 24,1%) (Statistisches Bundesamt, 2005). Ein Grund hierfür könnte sein, dass höher gebildete Personen eher bereit sind, an wissenschaftlichen Studien teilzunehmen. In Hinblick auf die Schulbildung ist die vorliegende Studie also nicht repräsentativ, so dass die Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die Allgemeinbevölkerung übertragen werden können.

Bei der Auswahl einer Kontrollgruppe für Studien zur Schizophrenie ist das Alter von großer Bedeutung. Eine Schizophrenie wird meist im dritten Lebensjahrzehnt manifest (Tandon et al., 2009). Werden in eine Kontrollstichprobe viele Personen in diesem Alter eingeschlossen, so kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, dass diese im Verlauf ihres Lebens noch eine Schizophrenie entwickeln. Die vorliegende Kontrollgruppe wies ein

durchschnittliches Alter von 47 Jahren auf, wobei die jüngsten Studienteilnehmer 20 Jahre alt waren. Da der Anteil der jüngeren Studienteilnehmer nicht überbetont war, ist von einer wohlproportionierten Altersverteilung auszugehen.

Neben dem Alter spielt in der Schizophrenie das Geschlecht eine entscheidende Rolle. Während frühe Studien von einem gleich hohen Erkrankungsrisiko bei Männern und Frauen ausgingen, nimmt man heute ein 1,4-fach höheres Risiko bei Männern an (McGrath et al., 2004). Kausal hierfür könnte eine neuroprotektive Wirkung des Östrogens sein (Häfner et al., 1995). Bei der Zusammenstellung der Studienteilnehmer ist deshalb auf ein ausgeglichenes Geschlechterverhältnis zu achten. Mit einem Frauenanteil von 48,8% in der vorliegenden Stichprobe ist von einem ausgeglichenen Verhältnis auszugehen.

6.1.3 Testverfahren

In der vorliegenden Studie wurde zur Ermittlung der Gedächtnisleistungen die deutsche Adaption der überarbeiteten Fassung des *Wechsler Memory Scale Revised* (WMS-R) angewandt. Der WMS-R ist ein international anerkannter Test zur Ermittlung von mnestischen Leistungen. Die Ergebnisse des WMS-R liefern Erkenntnisse zu dem Leistungspotential der Probanden hinsichtlich des verbalen, visuellen und verzögerten Gedächtnisses, sowie zu Aufmerksamkeit und Konzentration. Für die Reliabilität der Ergebnisse ist die Einhaltung des standardisierten Verfahrens analog des Handbuches zum WMS-R zwingend erforderlich. Dabei werden innerhalb von 45 Minuten 13 Subtests durchgeführt, die in der Auswertung die Leistung der Teilnehmer hinsichtlich der fünf genannten Gedächtnismerkmale widerspiegeln.

In früheren Studien mit schizophrenen Patienten wurde mehrmals von Störungen im verbalen und visuellen Gedächtnis berichtet (Goldberg et al., 1993; Holthausen et al., 2003).

Darüber hinaus wurde in anderen Assoziationsstudien, die den Val⁶⁶Met-Polymorphismus in Bezug auf kognitive Funktionen untersuchten, ebenfalls der WMS-R zur Ermittlung der

Gedächtnisleistungen angewandt (Egan et al., 2003; Dempster et al., 2005) was für den Einsatz dieser Methodik auch in der vorliegenden Studie sprach.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Der Zusammenhang des BDNF-Gens mit Schizophrenie wurde schon in mehreren Studien thematisiert (z. B. Dempster et al., 2005; Ho et al., 2007; Skibinska et al., 2005; Zhou et al., 2010). Durch seine protektive und regenerative Wirkung auf Neuronen und Motoneuronen im ZNS sowie seinen Einfluss auf Neurotransmittersysteme erscheint eine Einstufung als Kandidatengen in der Ätiologie dieser schweren psychiatrischen Erkrankung als nachvollziehbar (Sendtner et al., 1992; Yan et al., 1992; Gravel et al., 1997; Kobayashi et al., 1997; Mamounas et al., 2000). Es liegt nahe, dass bei dem vermuteten polygenen Erbgang die Effekte des einzelnen Gens minimal ausfallen können.

Der funktionelle Polymorphismus Val⁶⁶Met des BDNF-Gens führt zu einem Aminosäureaustausch von Valin zu Methionin, der über ein strukturell verändertes Genprodukt Effekte ausüben könnte, die auch in Zusammenhang mit der Erkrankung stehen könnten. Bereits durchgeführte Untersuchungen ergeben eine inkonsistente Ergebnislage, die auch die vorliegende Arbeit nicht vollends aufklären kann.

Skibinska et al. (2005) untersuchten anhand einer Stichprobe aus 336 kaukasischen Patienten und 375 Kontrollpersonen die Assoziation des rs6265 mit Schizophrenie. Wie auch in der vorliegenden Arbeit konnten die Autoren keine signifikante Assoziation mit der Erkrankung feststellen. Mit einer ähnlichen Individuenzahl sind die Ergebnisse von Skibinska et al. durchaus mit der vorliegenden Studie vergleichbar. Dabei wiesen die Allelfrequenzen ein ähnliches Resultat auf wie bei der vorliegenden Arbeit. Die Kontrollgruppe von Skibinska et al. wurde allerdings anonym rekrutiert und war keinen Ausschlussverfahren unterworfen.

Diskussion

Auch Neves-Pereira und Kollegen untersuchten Polymorphismen im BDNF Gen. Neben dem rs6265 genotypisierten sie auch noch einen *Dinucleotide-Repeat*-Polymorphismus, der 1040 Basenpaare vor dem Transkriptionsstart von BDNF lokalisiert ist. Dabei schlossen sie 321 schizophrene Patienten und 350 gesunde Kontrollen kaukasischer Abstammung in ihre Studie ein. Neves-Pereira et al. entdeckten, dass das Val-Allel und entsprechend der Val/Val Genotyp signifikant häufiger in der Gruppe der Schizophrenen zu finden war. Der *Dinucleotide-Repeat*-Polymorphismus zeigte für sich keine signifikante Assoziation mit der Erkrankung. Wurden beide Polymorphismen aber zu einem Haplotypen kombiniert, so war ein Haplotyp aus dem Allel-1 des *Dinucleotide-Repeat*-Polymorphismus und dem Met-Allel des rs6265 (Met-1) in der Patientengruppe unterrepräsentiert. Die Autoren vermuteten, dass dieser spezielle Haplotyp das Schizophrenierisiko vermindert (Neves-Pereira et al., 2005).

Die Ergebnisse von Neves-Pereira stimmen nicht mit denen der vorliegenden Arbeit überein. Es fallen allerdings einige Unterschiede im Studienaufbau auf. So wurden von Neves-Pereira in die Patientengruppe auch schizoaffective Personen miteingeschlossen, so dass beide Stichproben möglicherweise nicht direkt vergleichbar sind. Es könnte auch sein, dass der Effekt des rs6265 sehr klein ist und erst ab einer bestimmten Individuenzahl auffällig wird. Dafür spricht, dass die Assoziation des rs6265 bei Neves-Pereira eher moderat signifikant war ($p=0,0049$), erst bei der Betrachtung des Haplotyps ergaben sich hoch signifikante Werte ($p<1\times 10^{-8}$). Die im Vergleich geringere Stichprobengröße der vorliegenden Arbeit könnte somit dazu führen, dass der Effekt von rs6265 verborgen blieb.

Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit kamen Zakharyan und Kollegen in ihrer Untersuchung zu einer signifikanten Assoziation des rs6265 mit Schizophrenie. Dabei waren die diagnostischen Einschlusskriterien für alle Teilnehmer ähnlich stringent. Die 208 Studienteilnehmer, 103 schizophrene Patienten und 105 gesunde Kontrollprobanden, waren Kaukasier armenischer Abstammung. Bei den schizophrenen Patienten, die alle nach ICD-10 und DSM-IV paranoide Symptome hatten, waren die Träger der Met-Allele (55%) im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden (35%) deutlich überrepräsentiert (Zakharyan et al., 2011). Damit widersprechen die Ergebnisse von Zakharyan und Kollegen denen der vorliegenden Arbeit ebenso wie denen von Neves-Pereira, die das Met-Allel als protektives Allel identifiziert hatten. Allerdings wurde die Kontrollgruppe von Neves-Pereira anonym

rekrutiert, ohne dass auf psychiatrische Erkrankungen kontrolliert wurde. Diese Unterschiede im Studiendesign könnten zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.

Neben dem Studiendesign könnte auch ein unvollständiges Kopplungsungleichgewicht (*Linkage Disequilibrium*, LD) zur inkonsistenten Studienlage beitragen. So könnte es sein, dass der SNP rs6265 mit der kausalen Variante in unvollständigem LD liegt und deshalb der Effekt dieser kausalen Variante nicht in jeder Stichprobe über die Genotypen von rs6265 zum Tragen kommt.

6.2.2 Endophänotypenstudie

Die Hypothese, dass BDNF bei Störungen im Gedächtnissystem beteiligt sein kann, wurde bereits in mehreren Untersuchungen aufgestellt (Minichiello et al., 1999; Xu et al., 2000; Gärtner et al., 2006). BDNF wird stark im Hippocampus, einer Hirnregion, die an Lern- und Gedächtnisfunktionen beteiligt ist, exprimiert (Zola-Morgan et al., 1986; Gold und Squire, 2006), was dieser Vermutung Bestätigung zu geben scheint. Darüber hinaus wurden bei schizophrenen Patienten verkleinerte Hippocampusvolumina (Meisenzahl et al., 2010) und verringerte BDNF Level im Serum (Zhang et al., 2012) beobachtet. Auch wurden bei schizophrenen Patienten häufig Störungen der Gedächtnisleistungen festgestellt (Goldberg et al., 1989; Goldman-Rakic, 1994; Kurtz, 2005; Elissalde et al., 2011).

In der vorliegenden Endophänotypenstudie wurde nach Assoziationen zwischen Gedächtnisleistungen und dem Val⁶⁶Met Polymorphismus des BDNF Gens (rs6265) gesucht. Dabei wurden bei den Teilnehmern der Studie, schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollprobanden, die Genotyp- und Allelfrequenzen berechnet und an die Ergebnisse des vorher durchgeführten Wechsler-Gedächtnistests (WMS-R) gekoppelt.

Für den rs6265 wurde keine Assoziation auf das Gesamtergebnis des WMS-R festgestellt. Im Untertest „Verbales Gedächtnis“ konnte aber ein signifikanter Zusammenhang mit den vorliegenden Genotypen gezeigt werden ($F = 3,251$; $df = 2/434$; $p = 0,040$). Met-Homozygote zeigten die besten Leistungen in diesem Subtest.

Diskussion

Karnik et al. (2010) konnten in ihrer Studienreihe keinen Zusammenhang zwischen rs6265 und Gedächtnisleistungen ableiten. Dabei untersuchten sie in zwei Gruppen von insgesamt 129 gesunden Probanden neben der Assoziation des rs6265 mit Gedächtnisleistungen auch die Assoziation eines Genotyps auf das Gesamthirnvolumen und die Hippocampusvolumina. Zur Ermittlung der Gedächtnisleistungen wurden dabei vier Gedächtnistests durchgeführt: die *Category Fluency Task*, der *WMS Logical Memory I*, der *WMS Digit Span Forwards* und der *WMS Digit Span Backwards*. Die Genotypverteilung der Träger der Val-Allele war dabei den Daten der vorliegenden Arbeit und den Daten für Westeuropäer des HapMap Project sehr ähnlich (Tabelle 21), wobei festzustellen ist, dass im Versuchsaufbau von Karnik und Kollegen nur ein Met-Homozygoter vorkommt. Die von Karnik et al. durchgeführten Subtests des WMS-R zeigten auch in der vorliegenden Arbeit keine signifikante Assoziation mit dem SNP rs6265. Insgesamt scheinen beide Studien vergleichbar, auch wenn die Stichprobe von Karnik und Kollegen etwas kleiner war. Somit bestätigen die vorliegenden Ergebnisse die Resultate von Karnik und Mitarbeitern.

Tabelle 21: Vergleich Genotypfrequenzen der vorliegenden Arbeit mit der Studie von Karnik et al. und dem HapMap Project.

	Genotyp AA	Genotyp AG	Genotyp GG
Vorliegende Studie	4,5%	31,5%	64,0%
Karnik et al., 2010	0,6%	31,8%	67,4%
HapMap Project CEU	3,3%	28,3%	68,3%

Mandelmann und Grigorenko (2012) führten eine Metaanalyse bezüglich des rs6265 und kognitiven Funktionen durch. Sie schlossen 31 unabhängige Stichproben bestehend aus insgesamt 7095 Individuen unterschiedlicher Ethnizitäten in ihre Analyse ein. Die erfassten Phänotypen deckten dabei einen weit gefächerten Bereich der Kognition ab, wie Gedächtnis und Exekutivfunktionen. Da in den eingeschlossenen Studien verschiedene Skalen eingesetzt wurden bildeten die Autoren fünf Kategorien, in die sie die verschiedenen Skalen einordneten: allgemeine kognitive Fähigkeiten, Gedächtnis, Exekutivfunktionen,

Diskussion

visuelle Verarbeitung und kognitive Flüssigkeit. Obwohl sich deutliche Unterschiede in den Genotypverteilungen der eingeschlossenen Ethnizitäten zeigten, konnten die Autoren keinen Hinweis auf Populationsstratifikation finden.

In dieser Metaanalyse zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen rs6265 und einer der fünf Kategorien. Damit widersprechen die Ergebnisse dieser Metaanalyse der vorliegenden Arbeit. Beim Vergleich der beiden Studien ist aber zu beachten, dass der Untertest „Verbales Gedächtnis“ des WMS-R nicht ohne Weiteres mit einer der fünf Kategorien nach Mandelmann gleichgesetzt werden kann. So kann es sein, dass diese fünf Kategorien das verbale Gedächtnis nicht alleine erfassen und noch weitere kognitive Aspekte mit einfließen, so dass ein direkter Vergleich der Ergebnisse nicht möglich ist.

Egan et al. (2003) zeigten in ihrer großen Stichprobe mit 641 Teilnehmern, die aus schizophrenen Patienten, deren nicht erkrankte Geschwister sowie gesunden Kontrollprobanden zusammengesetzt war, einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem rs6265 und dem episodischen Gedächtnis ($F=3,89$; $df=2,591$; $p=0,02$). Bei der Auswertung der Genotypen der schizophrenen Patienten zeigten die Met/Met-Träger die schlechtesten Leistungen im dem WMS-R. Die Stichprobe der Teilnehmer war aus verschiedenen Ethnizitäten zusammengesetzt, was einen Vergleich mit der vorliegenden, kaukasischen Studie nur bedingt möglich macht. Ob die Autoren bei ihrer Arbeit nach Stratifikationseffekten gesucht haben, wurde nicht erwähnt. Die Verteilung der Genotypen entsprach aber weitestgehend der vorliegenden Studie, sowie den Referenzdaten des HapMap Project (Tabelle 21).

Einen Effekt von Met-Homozygoten konnten auch Dempster et al. (2005) feststellen. In ihrer kaukasischen Studie mit 92 schizophrenen Patienten und 114 nicht-erkrankten Verwandten gab es einen Trend dahin, dass der BDNF-Genotyp mit dem Wert für die verzögerte Wiedergabe im WMS-R assoziiert ist ($p=0,09$). Dabei erzielten die Met/Met-Träger die schlechtesten Werte. In der Gruppe der Kontrollgruppe allein gab es einen signifikanten Zusammenhang ($p=0,01$), wohingegen bei der Gruppe der schizophrenen Patienten keine signifikante Assoziation beobachtet werden konnte. Für die sofortige Wiedergabe und das Verhältnis von verzögerter zu sofortiger Wiedergabe ergaben sich ähnliche Ergebnisse. Als Schlussfolgerung bestätigten Dempster et al. das Ergebnis der

Diskussion

Studie von Egan (2003), eine Assoziation zwischen rs6256 und dem episodischen Gedächtnis.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Dempster und Kollegen war in der vorliegenden Arbeit das Vorliegen des Met-Allels mit besserer Leistung assoziiert. Es ist allerdings anzumerken, dass Dempster und Kollegen in ihrer Gruppe der schizophrenen Patienten auch solche einschlossen, die auch andere Formen von Psychosen (unipolare Depression, Depression mit Psychose, schizotype Persönlichkeitsstörung, bipolare Störung) aufwiesen. Auch wurden im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit als Kontrollprobanden Verwandte der schizophrenen Patienten eingesetzt, was Effekte in der Auswertung der Untersuchung nicht ausschließen lässt. Die Genotypverteilung der Studie von Dempster und Kollegen war jedoch der vorliegenden Arbeit und den Referenzdaten des HapMap Projects wiederum sehr ähnlich (Tabelle 22). Es ist also davon auszugehen, dass die untersuchten Populationen zwar miteinander vergleichbar sind, aber die diskrepanten Ergebnisse auf die unterschiedlichen Studiendesigns zurückzuführen sind.

Tabelle 22: Vergleich der Genotypfrequenzen aus der vorliegenden Arbeit mit Studien einer signifikanten Assoziation des rs6265 mit Gedächtnisleistungen und dem HapMap Project:

	Genotyp AA	Genotyp AG	Genotyp GG
Vorliegende Studie	4,5%	31,5%	64,0%
Egan et al.	4,5%	27,6%	67,9%
Dempster et al., 2005	3%	28%	69%
HapMap Project CEU	3,3%	28,3%	68,3%

Unterschiedliche Fall-Kontroll-Assoziationsstudien weisen auf eine mögliche Beteiligung des Val⁶⁶Met-Polymorphismus an der Ätiologie des komplexen, psychiatrischen Krankheitsbildes der Schizophrenie hin (Neves-Pereira et al., 2005; Zakharyan et al., 2011). Diese Erkenntnisse können aber durch weitere Untersuchungen (Skibinska et al., 2004; Tan et al., 2005; Jönsson et al., 2006) und die vorliegende Arbeit nicht bestätigt werden. Auch

Diskussion

innerhalb der signifikanten Assoziationen ergibt sich ein uneinheitliches Bild. Neves-Pereira und Kollegen stellten in ihrer Testreihe eine signifikante Überrepräsentation der Val/Val-Träger bei den schizophrenen Patienten im Vergleich zu den Kontrollen fest, sowie eine signifikante negative Abweichung bei einem Haplotypen des A-Allels des rs6265 und des Allels 1 des *Dinucleotide-Repeat*-Polymorphismus ebenfalls bei der Gruppe der schizophrenen Patienten (Neves-Pereira et al., 2005). Zakharyan und Mitarbeiter fanden dagegen den positiven Zusammenhang bei der Überrepräsentation der Met-Homozygoten bei den schizophrenen Patienten (Zakharyan et al., 2011).

Ein kausaler Zusammenhang der uneinheitlichen Ergebnislage könnte durch unterschiedliche Einschlusskriterien der Teilnehmer der verschiedenen Studien zu finden sein. Unterschiedliche diagnostische Kriterien können Einfluss auf die Studienergebnisse nehmen. Darüber hinaus können auch ethnische Effekte und die Größe der Studie (Anzahl der Teilnehmer) die Ergebnisse beeinflussen. Nominell kleine Testbatterien können durch Stratifikationseffekte eher zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Unter Berücksichtigung der stark voneinander abweichenden Genotypfrequenzen innerhalb der unterschiedlichen Ethnizitäten (Tabelle 18, Seite 74) sind darüber hinaus Ergebnisse aus kaukasischen Studien auf Menschen anderer Herkunft kaum übertragbar.

Hinweise auf eine Beteiligung des funktionellen Val⁶⁶Met-Polymorphismus des BDNF-Gens an kognitiven Leistungen des hippocampalen Systems zeigen mehrere Studien, die mit Teilnehmern unterschiedlicher Ethnizitäten vorgenommen wurden (Egan et al., 2003; Dempster et al., 2005; Tan et al., 2005). Auch die vorliegende Arbeit konnte eine signifikante Assoziation in einem Teilbereich des Gedächtnisses, dem verbalen Gedächtnis, zeigen. In allen vorgenannten Studien zeigten Met-Homozygote signifikante Assoziationen bei den Gedächtnisleistungen im Vergleich zu den anderen Genotypen. Andere Untersuchungen konnten diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigen (Hansell et al., 2007; Karnik et al., 2010; Mandelman und Grigorenko, 2012), sodass auch hier eine inkonsistente Ergebnislage vorliegt. Auch hier können uneinheitliche Rahmenbedingungen, wie Diagnoseverfahren und Einschlusskriterien, bei den Studienteilnehmern zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.

6.3 Funktionelle Konsequenzen des Val⁶⁶Met-Polymorphismus

Bisher konnte nicht abschließend geklärt werden, ob der Polymorphismus rs6265 in direktem Zusammenhang mit der Erkrankung Schizophrenie oder kognitiver Leistungsfähigkeit steht.

Der SNP führt zu einem Aminosäureaustausch von Valin nach Methionin an Position 66 des BDNF-Genprodukts. Damit nimmt rs6265 direkten Einfluss auf die Proteinstruktur, so dass funktionelle Konsequenzen möglich erscheinen.

Hinweise hierauf lieferten Egan und Kollegen (2003), als sie auffällige Unterschiede in der Verteilung und Sekretion der Proteinvarianten in den hippocampalen Neuronen fanden. Während Val-BDNF vorwiegend in den Dendriten lokalisiert war, wurde Met-BDNF hauptsächlich im Zellkörper aufgefunden. Da BDNF in die synaptische Übertragung involviert ist, kann die Met-Variante anscheinend nicht so gut in die Synapsen transportiert werden. Das könnte erklären warum Met-BDNF innerhalb der neuronalen Netzwerke weniger gut arbeitet, als die Val-BDNF-Variante, woraus sich auch Störungen im Gedächtnissystem ableiten lassen könnten.

Auch durch die starke Exprimierung von BDNF im Hippocampus (Zola-Morgan et al., 1986; Gold und Squire, 2006), sowie seine protektive und regenerative Wirkung von Neuronen und Motoneuronen im ZNS (Sendtner et al., 1992; Yan et al., 1992; Gravel et al., 1997; Kobayashi et al., 1997; Mamounas et al., 2000) erscheint ein direkter Einfluss des rs6265 auf kognitive Leistungen als vorstellbar. Es ist aber auch durchaus möglich, dass der Val⁶⁶Met-Polymorphismus indirekt in nachfolgende funktionelle Veränderungen eingreift oder regulatorisch auf andere Gene wirkt (Bath und Lee, 2006).

Auch könnte der Austausch von Valin zu Methionin an Position 66 eine gestörte Proteinfaltung und –dimerisierung zur Folge haben, was die Bindungs- und Transporteigenschaften von BDNF verändert (Ho et al., 2007). Zu dieser möglichen funktionellen Konsequenz kamen Chen et al. (2005), die beobachteten, dass die Met-Variante weniger effizient an das Protein Sortilin bindet, das am Transport von BDNF beteiligt ist. Sie nahmen daraufhin an, dass die Met-Variante weniger effizient in

Diskussion

sekretorische Granula (Vesikel) aufgenommen wird, was zu einem schlechteren Transport dieser Proteinvariante in die Dendriten führen könnte.

Unter Berücksichtigung der exponierten Rolle von BDNF in der neuronalen Entwicklung, liegt die Vermutung nahe, dass eine veränderte Funktionalität von BDNF auch Auswirkungen auf die Hirnstrukturen haben könnte. Bei einer Untersuchung an Mäusen, die mit der Met-Variante transfiziert wurden, stellten Frielingsdorf et al. (2010) fest, dass diese Mäuse eine signifikante Volumenreduktion im Hippocampus aufwiesen - einer Region mit hoher BDNF-Konzentration. Zu ähnlichen Ergebnissen kam eine humane Studie, die geringere Hippocampusvolumina sowohl bei Val/Met-Heterozygoten, als auch bei Met-Homozygoten im Vergleich zu Individuen ohne Met-Allel registrierte (Molendijk et al., 2012).

Aber nicht nur die Hippocampusregion scheint betroffen zu sein. In einer Langzeituntersuchung stellten Ho und Kollegen fest, dass schizophrene Met-Allelträger einen größeren Verlust an grauer Substanz im Frontallappen erleiden als Val-Allelträger. Analog dazu nahm bei den Probanden mit Met-Allel das Ventrikelvolumen stärker zu als bei Probanden mit Val-Allel (Ho et al., 2007).

Neben einer direkten funktionellen Konsequenz des rs6265 scheint aber auch eine indirekte Wirkung dieses Polymorphismus nicht ausgeschlossen. So könnte dieser SNP in unvollständigem Kopplungsungleichgewicht mit einer anderen kausalen Variation stehen. Dafür würden die inkonsistenten Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen bezüglich einer Assoziation mit Schizophrenie sprechen.

6.4 Ausblick

Die vorliegende Arbeit konnte die Rolle des rs6265 in der Entstehung der Schizophrenie und bei kognitiven Funktionen nicht abschließend beantworten. Um den möglicherweise nur kleinen Effekt dieses Polymorphismus zu untersuchen, werden weitere Assoziationsstudien mit höheren Individuenzahlen nötig sein. Dabei ist auf eine strikte

Diskussion

Einhaltung der Ein- und Ausschlusskriterien zu achten, ebenso wie auf eine ausgeglichene Geschlechterverteilung und Altersstruktur in der Stichprobe.

Im Anschluss an eine gesicherte Assoziation ist die Klärung der funktionellen Konsequenzen wichtig. Hier könnten neben Zellkulturversuchen zur Proteinuntersuchung auch Tiermodelle eingesetzt werden, die sich besonders zur Untersuchung von Gedächtnisfunktionen eignen.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen und Zeichen	Erklärung
APA	American Psychiatric Assoziation
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
COMT	Catechol-O-Methyltransferase Gen
CT	Computertomographie
DLPFC	Dorsolateraler Präfrontalcortex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxynucleotid-triphosphate
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DTNBP1	Dysbindin Gen
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FHAM	Family History Assessment Modul
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FSK	First-Rank Symptoms
GABA	γ -Aminobuttersäure
GWAS	Genomweite Assoziationsstudien
HSCT	Hayling Sentence Completion Test
HT	Hydroxytryptamin
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10 th Revision

Abkürzungsverzeichnis

IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
LSD	Lysergsäurediethylamid
LTP	Langzeitpotentierung
MALDI-TOF	Matrix assisted laser desorption adsorption, time of flight
Met	Methionin
MINI	Mini-International Psychiatric Interview
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMST	Mini Mental Status Test
mRNA	Messenger Ribonucleinsäure
NDMA	N-Methyl-D-Aspartat
NRGN	Neurogranin Gen
NT	Neurotrophin
NTR	Neurotrophin-Rezeptor
p	Pico
PCR	Polymerasekettenreaktion
PPI	Prepulse Inhibition
RBANS	Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status
RGS4	Regulator of G-protein Signalling 4 Gen
SAP	Shrimp alkaline phosphatase
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV
SNP	Single Nucleotide Polymorphism

Abkürzungsverzeichnis

SPSS	Statistical Package for Social Sciences
STG	Gyrus temporalis superior
SZ	Schizophrenic Patients
TCF	Transcription Factor
TDT	Transmissions-Disequilibrium-Test
Trk	Tyrosinkinase
Val	Valin
WHO	World Health Organization
WMS-R	Welcher Memory Scale - Revised
ZNF	Zink Finger Protein
ZNS	Zentrales Nervensystem

8 Literaturverzeichnis

Acklin C, Stoney K, Rosenfeld RA, Miller JA, Rohde MF, Haniu M (1993). Recombinant human brain-derived neurotrophic factor (rHuBDNF). Disulfide structure and characterization of BDNF expressed in CGO cells. *International journal of peptide and protein research* 41, 548 - 552

Agartz I, Sedvall GC, Terenius L, Kulle B, Frigessi A, Hall H, Jönsson EG (2006). BDNF gene variants and brain morphology in schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 141B, 513 - 523

Aleman A, Hijman R, de Haan EH, Kahn RS (1999). Memory impairment in schizophrenia: A meta-analysis. *The American Journal of Psychiatry* 156, 1249 - 1258

Aleman A, Kahn RS, Selten JP (2003). Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Archives of General Psychiatry* 60, 565 - 571

Allen HA, Liddle PF, Frith CD (1993). Negative features, retrieval processes and verbal fluency in schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 163, 769 - 775

Allen DN, Goldstein G, Warnick E (2003). A consideration of neuropsychologically normal schizophrenia. *Journal of the International Neuropsychological Society* 9, 56 - 63

Andreasen NC (1982). Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability. *Archives of General Psychiatry* 36, 1315 - 1321

Andreasen NC, Carpenter WT, Kane JM, Lasser RA, Marder SR, Weinberger DR (2005). Remission in Schizophrenia: Proposed Criteria and Rationale for Consensus. *The American Journal of Psychiatry* 162, 441 - 449

Literaturverzeichnis

Arenas E, Akerud P, Wong V, Boylan C, Persson H, Lindsay RM, Altar CA (1996). Effects of BDNF and NT-4/5 on striatonigral neuropeptides or nigral GABA neurons in vivo. *The European journal of neuroscience* 8, 1707 – 1717

Auquier P, Lançon C, Rouillon F, Lader M (2007). Mortality in schizophrenia. *Pharmacoepidemiology & Drug Safety* 16, 1308 - 1312

Baddeley A (2001). The concept of episodic memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 356, 1345 - 1350

Badner JA, Gershon ES (2002). Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 7, 405 - 411

Baiano M, David A, Versace A, Churchill R, Balestrieri M, Brambilla P (2007). Anterior cingulate volumes in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of MRI studies. *Schizophrenia Research* 93, 1 - 12

Barbacid M (1995). Neurotrophic factors and their receptors. *Current Opinion in Cell Biology* 7, 148 - 155

Barde YA (1990). The nerve growth factor family. *Progress in growth factor research* 2, 237 - 248

Bath KG, Lee FS (2006). Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience* 6, 79 - 85

Baumeister AA, Francis JL (2002). Historical development of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Journal of the History of Neurosciences* 11, 265 - 277

Beiser M, Erickson D, Flemming JAE, Iacono WG (1993). Establishing for onset of psychotic illness. *The American Journal of Psychiatry* 150, 1349 - 1354

Literaturverzeichnis

Benson MA, Newey SE, Martin-Rendon E, Hawkes R, Blake DJ (2001). Dysbindin, a novel coiled-coil-containing protein that interacts with dystrobrevins in muscle and brain. *The Journal of Biological Chemistry* 276, 242323 - 24241

Bilder RM, Goldman RS, Robinson D, Reiter G, Bell L, Bates JA, Pappadopoulos E, Willson DF, Alvir JM, Woerner MG, Geisler S, Kane JM, Lieberman JA (2000). Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates. *The American Journal of Psychiatry* 15, 549 - 559

Bishop JF, Mueller GP, Mouradian MM (1994). Alternate 5' exons in the rat brain-derived neurotrophic factor gene: differential patterns of expression across brain regions. *Molecular Brain Research* 26, 225 - 232

Bleuler E (1911). Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien. Deuticke. Leipzig und Wien

Bocchio-Chiavetto L, Bagnardi V, Zanardini R, Molteni R, Nielsen MG, Placentino A, Giovannini C, Rilloso L, Ventriglia M, Riva MA, Gennarelli M (2010). Serum and plasma BDNF levels in major depression: A replication study and meta-analyses. *World Journal of Biological Psychiatry* 11, 763 – 773

Boos H, Aleman A, Cahn W, Kahn R (2006). Brain volumes in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophrenia Research* 81, 41

Borroni B, Archetti S, Costanzi C, Grassi M, Ferrari M, Radeghieri A, Caimi L, Caltagirone C, Di Luca M, Padovani A (2007). Role of BDNF Val66Met functional polymorphism in Alzheimer's disease-related depression. *Neurobiology of Aging* 30, 1406 - 1412

Boydell J, van Os J, McKenzie K, Allardyce J, Goel R, McCreadie RG, Murray RM (2001). Incidence of schizophrenia in ethnic minorities in London: ecological study into interactions with the environment. *British Medical Journal* 323, 1336 - 1338

Literaturverzeichnis

Braff DL, Geyer MA, Swerdlow NR (2001). Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology* 156, 234 - 258.

Braff DL, Freedman R, Schork NJ, Gottesman I (2007). Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophrenia Bulletin* 33, 21 - 32

Bramham CR, Messaoudi E (2005). BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Progress in Neurobiology* 76, 71 - 124

Bray NJ, Buckland PR, Williams NM, Williams HJ, Norton N, Owen MJ, O'Donovan MC (2003). A haplotype implicated in schizophrenia susceptibility is associated with reduced COMT expression in human brain. *The American Journal of Human Genetics* 73, 152 - 161

Brzustowicz LM, Hodgkinson KA, Chow EW, Honer WG, Bassett AS (2000). Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science* 288, 678 - 682

Buchanan RW, Davis M, Goff D, Green MF, Keefe RS, Leon AC, Nuechterlein KH, Laughren T, Levin R, Stover E, Fenton W, Marder SR (2005). A summary of the FDA-NIMHMATRICES workshop on clinical trial design for neurocognitive drugs for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 31, 5 – 19

Buka SL, Tsuang MT, Torrey EF, Klebanoff MA, Bernstein D, Yolken RH (2001). Maternal infections and subsequent psychosis among offspring. *Archives of General Psychiatry* 58, 1032 - 1037

Bueller JA, Aftab M, Sen G, Gomez-Hassan D, Burmeister M, Zubieta JK (2006). BDNF Val66Met allele is associated with reduced hippocampal volume in healthy subjects. *Biological Psychiatry* 59, 812 - 815

Camp NJ, Cox A (2002). Quantitative Trait Loci: Methods and Protocols. *Methods in Molecular Biology* 185, Humana Press

Literaturverzeichnis

Cannon TD (2005). The inheritance of intermediate phenotypes for schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry* 18, 135 - 140

Cantor-Graae E, Selten JP (2005). Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *The American Journal of Psychiatry* 162, 12 - 24

Carlsson A, Lindqvist M (1963). Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3-methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacol Toxicol, Copenhagen*

Carpenter WT, Heinrichs DW, Wagman AMI (1988). Deficit and nondeficit forms of schizophrenia: the concept. *The American Journal of Psychiatry* 145, 578 - 583

Chan RC, Gottesman II (2008). Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: A shooting star or a Northern star? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32, 957 - 971

Chen ZY, Patel PD, Sant G, Meng CX, Teng KK, Hempstead BL, Lee FS (2004). Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *The Journal of Neuroscience* 24, 4401 – 4411

Chen ZY, Ieraci A, Teng H, Dall H, Meng CX, Herrera DG, Nykjaer A, Hempstead BL, Lee FS (2005). Sortilin controls intracellular sorting of brain-derived neurotrophic factor to the regulated secretory pathway. *The Journal of Neuroscience* 25, 6156 – 6166

Cirillo M, Seidman LJ (2003). A review of verbal declarative memory function in schizophrenia: from clinical assessment to genetics and brain mechanisms. *Neuropsychology Review* 13, 43 - 77

Cole J, Weinberger DR, Mattay VS, Cheng X, Toga AW, Thompson PM, Powell-Smith G, Cohen-Woods S, Simmons A, McGuffin P, Fu CH (2011). No effect of 5HTTLPR or

Literaturverzeichnis

BDNF Val66Met polymorphism on hippocampal morphology in major depression. *Genes, Brain and Behaviour* 10, 756 - 764

Cooper C, Morgan C, Byrne M, (2008). Perceptions of disadvantage, ethnicity and psychosis. *The British Journal of Psychiatry* 192, 185 - 190

Corcoran C, Walker E, Huot R, Mittal V, Tessner K, Kestler L, Malaspina D (2003). The stress cascade in schizophrenia: etiology and onset. *Schizophrenia Bulletin* 29, 671 - 692

Cornblatt B, Obuchowski M, Roberts S, Pollack S, Erlenmeyer-Kimling L (1999). Cognitive and behavioural precursors of schizophrenia. *Development and psychopathology* 11, 487 - 508

Crow TJ (1980). Molecular pathology of schizophrenia: more than one disease process? *British Medical Journal* 280, 66 - 68

Dalman C, Allebeck P, Gunnell D, Harrison G, Kristensson K, Lewis G, Lofving S, Rasmussen F, Wicks S, Karlsson H (2008). Infection in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one million Swedish subjects. *Schizophrenia Research* 102, 1 - 18

David AS, Prince M (2005). Psychosis following head injury: a critical review. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 76, 53 - 60

Davodyfar ZJ (2006). Das RGS4-Gen in der Schizophrenie. *Dissertation, LMU, München*

Dempster E, Toulouloulou T, McDonald C, Bramon E, Walshe M, Filbey F, Wickham H, Sham PC, Murray RM, Collier DA (2005). Association between BDNF Val⁶⁶Met genotype and episodic memory. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 134B, 73 - 75

Literaturverzeichnis

Dickerson FB, Boronow JJ, Stallings C, Origoni AE, Ruslanova I, Yolken RH (2003). Association of serum antibodies to herpes simplex virus 1 with cognitive deficits in individuals with schizophrenia: *Archives of General Psychiatry* 60, 466 - 472

Dilling H, Mombour W, Schmidt MH, Schulte-Markwort E (2011). Internationale Klassifikation Psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). *Diagnostische Kriterien für Forschung und Praxis*. Huber Verlag

Dohrenwend BP, Levav I, Shrout PE, Schwartz S, Naveh G, Link BG, Skodol AE, Stueve A (1992). Socioeconomic status and psychiatric disorders: the causation-selection issue. *Science* 255, 946 - 952

Egan MF, Kojima M, Callicot JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR (2003). The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112, 257 - 269

Elissalde SN, Mazzola-Pomietto P, Viglianese N, Correard N, Fakra E, Azorin JM (2011). Schizophrenia, executive control and memory. *Encephale* 2, 95 - 99

Enfors P, Ibanez CF, Ebendal T, Olson L, Persson H (1990). Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor : development and topographical expression in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87, 5454 - 5458

Ernst M, Matochik JA, Heishman SJ, Van Horn JD, Jons PH, Henningfield JE, London ED (2001). Effect of nicotine on brain activation during performance of a working memory test. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 4728 - 4733

Fanous AH, Kendler KS (2005). Genetic heterogeneity, modifier genes, and quantitative phenotypes in psychiatric illness: searching for a framework. *Molecular Psychiatry* 10, 6 – 13

Literaturverzeichnis

Faraone SV, Kremen WS, Lyons MJ, Pepple JR, Seidman LJ, Tsuang MT (1995/1). Diagnostic accuracy and linkage analysis: how useful are schizophrenia spectrum phenotypes? *The American Journal of Psychiatry* 152, 1286 - 1290

Faraone SV, Kremen WS, Lyons MJ, Pepple JR, Seidman LJ, Tsuang MT (1995/2). Neuropsychological functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: a diagnostic efficiency analysis. *Journal of Abnormal Psychology* 104, 286 - 304.

Faris REL, Dunham HW (1939). Mental disorders in urban areas: an ecological study of schizophrenia and other psychoses. *The University of Chicago Press* 38, 270pp

Ferrer I, Marín C, Rey MJ, Ribalta T, Goutan E, Blanco R, Tolosa E, Martí E (1999). BDNF and full-length and truncated TrkB expression in Alzheimer disease. Implications in therapeutic strategies. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 58, 729 - 739

Figurov A, Pozzo-Miller LD, Olafsson P, Wang T, Lu B (1996). Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. *Nature* 381, 706 - 709

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975). Mini-Mental State (a practical method for grading the state of patients for the clinician). *Journal of Psychiatric Research* 12, 189 – 198

Franke P, Maier W, Hain C, Klingler T (1992). Wisconsin Card Sorting Test: an indicator of vulnerability to schizophrenia? *Schizophrenia Research* 6, 243 – 249

Freedman R, Adler LE, Leonard S (1999). Alternative phenotypes for the complex genetics of schizophrenia. *Biological Psychiatry* 45, 551 - 558

Friedman D, Squires-Wheeler E (1994). Event-related potentials (ERPs) as indicators of risk for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 20, 63 - 74

Literaturverzeichnis

Frielingsdorf H, Bath KG, Soliman F, DiFede J, Casey BJ, Lee FS (2010). Variant brain-derived neurotrophic factor val66met endophenotypes: implications for posttraumatic stress disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1208, 150 - 157

Friston KJ (1998). The disconnection hypothesis. *Schizophrenia Research* 30, 115 – 125

Frodl T, Schüle C, Schmitt G, Born C, Baghai T, Zill P, Bottlender R, Rupprecht R, Bondy B, Reiser M, Möller HJ, Meisenzahl EM (2007). Association of the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism with reduced hippocampal volumes in major depression. *Archives of General Psychiatry* 64, 410 - 416

Gärtner A, Polnau DG, Staiger V, Sciarretta C, Minichiello L, Thoenen H, Bonhoeffer T, Korte M (2006). Hippocampal long-term potentiation is supported by presynaptic and postsynaptic tyrosine receptor kinase B-mediated phospholipase C γ signalling. *The Journal of Neuroscience* 26, 3496 - 3504;

Goff DC, Coyle JT (2001). The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry* 158, 1367 - 1377

Gold JJ, Squire LR (2006). The anatomy of amnesia: neurohistological analysis of three new cases. *Learning and Memory* 13, 699 – 710, epub

Goldberg TE, Weinberger DR, Pliskin NH, Berman KF, Podd MH (1989). Recall memory deficit in schizophrenia. A possible manifestation of prefrontal dysfunction. *Schizophrenia Research* 2, 251 - 257

Goldberg TE, Gold JM, Greenberg R, Griffin S, Schulz SC, Pickar D, Kleinman JE, Weinberger DR (1993). Contrasts between patients with affective disorders and patients with schizophrenia on a neuropsychological test battery. *The American Journal of Psychiatry* 150, 1355 - 1362

Goldman-Rakic PS (1994). Working memory dysfunction in schizophrenia. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 6, 348 – 357

Literaturverzeichnis

Gottesman II, McGuffin P, Farmer AE (1987). Clinical genetics as clues to the “real” genetics of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 12, 23 - 47

Gottesman II, Gould TD (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American Journal of Psychiatry* 160, 636 - 645

Gourion D, Goldberger C, Leroy S, Bourdel MC, Olie JP, Krebs MO (2005). Age at onset of schizophrenia: interaction between brain-derived neurotrophic factor and dopamine D3 receptor gene variants. *Neuroreport* 16, 1407 - 1410

Gravel C, Goetz R, Lorrain A, Sendtner M (1997). Adenoviral gene transfer of ciliary neurotrophic factor and brain-derived neurotrophic factor leads to long-term survival of axotomized motor neurons. *Nature Medicine* 3, 765-770

Green MF (1996). What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? *The American Journal of Psychiatry* 153, 321 – 330

Green MF, Kern RS, Braff DL, Mintz J (2000). Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the “right stuff”? *Schizophrenia Bulletin* 26, 119 - 136

Green MF, Nuechterlein KH, Gold JM, Barch DM, Cohen J, Essock S, Fenton WS, Frese F, Goldberg TE, Heaton RK, Keefe RS, Kern RS, Kraemer H, Stover E, Weinberger DR, Zalcman S, Marder SR (2004). Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria. *Biological Psychiatry* 56, 301 - 307

Gross G (1997). The onset of schizophrenia. *Schizophrenia Research* 28, 187 - 198

Gur RE, Calkins ME, Gur RC, Horan WP, Nuechterlein KH, Seidman LJ, Stone WS (2007). The consortium on the genetics of schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophrenia Bulletin* 33, 49 – 68

Literaturverzeichnis

Härting C, Markowitsch HJ, Neufeld H, Calabrese P, Deisinger K, Kessler J (2000). WMSR, Wechsler Gedächtnistest – Revidierte Fassung. *Bern, Verlag Hans Huber*

Hafner H, an der Heiden W, Behrens S, Gattaz WF, Hambrecht M, Löffler W, Maurer K, Munk-Joergensen P, Nowotny B, Riecher-Rössler A, Stein A (1998). Causes and consequences of the gender differences in age of onset of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 24, 99 - 113

Hafner H, an der Heiden W (1999). The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 249, 14 – 26

Hajek T, Kopecek M, Höschl C (2011). Reduced hippocampal volumes in healthy carriers of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism: Meta analysis. *The World Journal of Biological Psychiatry* 2011 (Epub ahead of print)

Hansell NK, James MR, Duffy DL, Birley AJ, Luciano M, Geffen GM, Wright MJ, Montgomery GW, Martin NG (2007). Effect of the BDNF V166M polymorphism on working memory in healthy adolescents. *Genes, Brain and Behaviour* 6, 260 - 268

Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, Weinberger DR (2003). Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *The Journal of Neuroscience* 23, 6690 - 6694

Haro JM, Novick D, Suarez D, Ochoa S, Roca M (2008). Predictors of the course of illness in outpatients with schizophrenia: a prospective three year study. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 32, 1287 - 1292

Harrison PJ, Weinberger DR (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular Psychiatry* 10, 40-68

Literaturverzeichnis

Hasbi A, Fan T, Alijaniam M, Nguyen T, Perrault ML, O'Dowd BF, George SR (2009). Calcium signaling cascade links dopamine D1 –D2 receptor heteromer to striatal BDNF production and neuronal growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 21377-21382

Hautzinger M, Thies E (2009). Klinische Psychologie: Psychische Störungen kompakt. Beltz, Weinheim, ISBN 978-3-621-27755-6

Heinrichs RW, Zakzanis KK (1998). Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12, 426-445

Heston LL (1966). Psychiatric disorders in the foster home reared children of schizophrenic mothers. *The British Journal of Psychiatry* 112, 819 - 825

Ho BC, Andreasen NC, Dawson JD, Wassink TH (2007). Association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met gene polymorphism and progressive brain volume changes in schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry* 164, 1890 - 1899

Holzman PS, Solomon, Levin S, Waternaux CS (1984). Pursuit Eye Movement Dysfunctions in Schizophrenia. Family evidence for specificity. *Archives of General Psychiatry* 41, 136 – 139

Holzman PS, Kringlen E, Matthysse S, Flanagan SD, Lipton RB, Cramer G, Levin S, Lange K, Levy DL (1988). A single dominant gene can account for eye tracking dysfunctions and schizophrenia in offspring and discordant twins. *Archives of General Psychiatry* 45, 641 – 647

Hong CJ, Liu HC, Liu TY, Lin CH, Checg CY, Tsai SJ (2003). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphisms in Parkinson's disease and age of onset. *Neuroscience Letters* 15, 75 - 77

Literaturverzeichnis

Hyman C, Hofer M, Barde YA, Juhasz M, Yancopoulos GD, Squinto SP, Lindsay RM (1991). BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. *Nature* 350, 230-232

Iyer SN, Boekestyn L, Cassidy CM, King S, Joobor R, Malla AK (2008). Signs and symptoms in the pre-psychotic phase: description and implications for diagnostic trajectories. *Psychological Medicine* 38, 1147 - 1156

Javitt DC, Coyle JT (2004). Decoding schizophrenia. *Scientific American* 290, 48-55

Jessen F, Schumacher A, von Widdern O, Guttenthaler V, Hofels S, Suliman H, Scheef L, Block W, Urbach H, Maier W, Zobel A (2009). No association of the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor with hippocampal volume in major depression. *Psychiatric Genetics* 19, 99 – 101

Jiang X, Xu K, Hoberman J, Tian F, Marko AJ, Waheed JF, Harris CR, Marini AM, Enoch MA, Lipsky RH (2005). BDNF variation and mood disorders: a novel functional promoter polymorphism and Val66Met are associated with anxiety but have opposing effects. *Neuropsychopharmacology* 30, 1353 - 1361

Job DE, Whalley HC, McConnell S, Glabus M, Johnstone EC, Lawrie SM (2003). Voxel-based morphometry of grey matter densities in subjects at high risk of schizophrenia. *Schizophrenia Research* 64, 1 - 13

Jönsson EG, Edman-Ahlbom B, Sillen A, Gunnar A, Kulle B, Frigessi A, Vares M, Ekholm B, Wode-Helgodt B, Schumacher J, Cichon S, Agartz I, Sedvall GC, Hall H, Terenius L (2006). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) variants and schizophrenia: an association study. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 30, 924 - 933

Johnstone EC, Russell KD, Harrison LK, Lawrie SM (2003). The Edinburgh High Risk Study: current status and future Prospects. *World Psychiatry* 2, 45 - 49

Literaturverzeichnis

Jungbluth S, Bailey K, Barde YA (1994). Purification and characterisation of brain-derived neurotrophic factor / neurotrophin-3 (BDNF / NT-3) heterodimer. *European Journal of Biochemistry* 221, 677-685

Kahlbaum KL (1863). Die Gruppierung der psychischen Krankheiten und die Eintheilung der Seelenstörungen. Kafemann, Danzig

Kang H, Welcher AA, Shelton D, Schuman EM (1997). Neurotrophins and time: different roles for TrkB signalling in hippocampal long-Term potentiation. *Neuron* 19, 653–664

Karakasis C, Kalinderi K, Katsarou Z, Fidani L, Bostantjopoulou S (2011). Association of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism with Parkinson's disease in a Greek population. *Journal of Clinical Neuroscience* 18, 1744 - 1745

Karnik MS, Wang L, Barch DM, Morris J, Csernansky JG (2010). BDNF polymorphism rs6265 and hippocampal structure and memory performance in healthy control subjects. *Psychiatry Research* 178, 425 - 429

Kendler KS, McGuire M, Gruenberg AM, O'Hare A, Spellman M, Walsh D (1993). The Roscommon family study. I. Methods, diagnosis of probands, and risk of schizophrenia in relatives. *Archives of General Psychiatry* 50, 527 - 540

Kety SS, Rosenthal D, Wender P, Schulsinger F (1968). The types and prevalence of mental illness in the biological and adoptive families of adopted schizophrenies. *Journal of Psychiatric Research* 1, 345 - 362

Kim YK, Lee HP, Won SD, Park HY, Lee BH, Lee SW, Yoon D, Han C, Kim DJ, Choi SH (2007). Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 31, 78 – 85

Kirkbride JB, Fearon P, Morgan C, Dazzan P, Morgan K, Tarrant J, Lloyd T, Holloway J, Hutchinson G, Leff JP, Mallett RM, Harrison GL, Murray RM, Jones PB (2006). Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings

Literaturverzeichnis

from the 3-center Aetiology and Ethnicity in Schizophrenia and Related Psychosis (AeSOP) study. *Archives of General Psychiatry* 63, 250 - 258

Klosterkötter J, Schultze-Lutter F, Ruhrmann S (2008). Kraepelin and psychotic prodromal conditions. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 258, 74 – 84

Knable MB, Barci BM, Webster MJ, Meador-Woodruff J, Torrey EF (2004). Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: post-mortem findings from the Stanley Neuropathology Consortium. *Molecular Psychiatry* 9, 609 - 620

Kobayashi NR, Fan DP, Giehl KM, Bedard AM, Wiegand SJ, Tetzlaff W (1997). BDNF and NT-4/5 prevent atrophy of rat rubrospinal neurons after cervical axotomy, stimulate GAP-43 and α -tubulin mRNA expression, and promote axonal regeneration. *The Journal of Neuroscience* 17, 9583 - 9595

Konick LC, Friedman L (2001). Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia. *Biological Psychiatry* 49, 28 - 38

Konnert H (2010). Einfluss des RGS4-Gens auf Schizophrenie und schizophrenierelevante neuropsychologische Endophänotypen. *Dissertation, LMU, München*

Kraepelin E (1896). Dementia praecox. Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. *Barth, Leipzig*.

Kremen WS, Seidman LJ, Faraone SV, Toomey R, Tsuang MT (2004). Heterogeneity of schizophrenia: a study of individual neuropsychological profiles. *Schizophrenia Research* 71, 307 - 321

Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Charney DS (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic perceptual, cognitive and neuroendocrine responses. *Archives of General Psychiatry* 51, 199 - 214

Literaturverzeichnis

- Kubicki M, McCarley R, Westin CF, Park HJ, Maier S, Kikinis R, Jolesz FA, Shenton ME (2007). A review of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research* 41, 15 - 30
- Kulkarni J, Hyaes E, Gavrilidis E (2012). Hormones and schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry* 25, 89 - 95
- Kumari V, Das M, Zachariah E, Ettinger U, Sharma T (2005). Reduced prepulse inhibition in unaffected siblings of schizophrenia patients. *Psychophysiology* 42, 588 - 594.
- Kurtz MM (2005). Neurocognitive impairment across lifespan in schizophrenia: an update. *Schizophrenia Research* 74, 15 – 26
- Lander ES, Schork NJ (1994). Genetic dissection of complex traits. *Science* 265, 2037 - 2048
- Lawrie SM, Abukmeil SS (1998). Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. *The British Journal of Psychiatry* 172, 110 - 120
- Lee BH, Kim YK (2010). The roles of BDNF in the pathophysiology of major depression and in antidepressant treatment. *Psychiatry Investigation* 7, 231 - 235
- Lee FS, Chao MV (2001). Activation of Trk neurotrophin receptors in the absence of neurotrophins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 3555 - 3560
- Lee J, Fukumoto H, Orne J, Klucken J, Raju S, Vanderburg CR, Irizarry MC, Hyman BT, Ingelsson M (2005). Decreased levels of BDNF protein in Alzheimer temporal cortex are independent of BDNF polymorphisms. *Experimental Neurology* 194, 91 - 96
- Lencz T, Lambert C, DeRosse P, Burdick KE, Morgan TV, Kane JM, Kucherlapati R, Malhotra AK (2007). Runs of homozygosity reveal highly penetrant recessive loci in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 19942 - 19947

Literaturverzeichnis

Leweke FM, Gerth CW, Koethe D, Klosterkötter J, Ruslanova I, Krivogorsky B, Torrey EF, Yolken RH (2004). Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 254, 4 - 8

Lewin GR, Barde YA (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annual Review of Neuroscience* 19, 289 - 317.

Lewis G, David A, Andreasson S, Allebeck P (1992). Schizophrenia and city life. *Lancet* 340, 137 - 140

Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lonnqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zoega T, Helgason T (2003). Genome Scan Meta-Analysis of Schizophrenia and Bipolar Disorder, Part II: Schizophrenia. *The American Journal of Human Genetics* 73, 34 – 48

Lieberman JA, Tollefson GD, Charles C, Zipursky R, Sharma T, Kahn RS, Keefe RS, Green AI, Gur RE, McEvoy J, Perkins D, Hamer RM, Gu H, Tohen M (2005). Antipsychotic drug effects on brain morphology in first-episode psychosis. *Archives of General Psychiatry* 62, 361 - 370

Lohoff FW, Sander T, Ferraro TN, Dahl JP, Gallinat J, Berrettini WH (2005). Confirmation of association between Val66Met polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 139B, 51 - 53

Lu B, Gottschalk W (2000). Modulation of hippocampal synaptic transmission and plasticity by neurotrophins. *Progress in Brain Research* 128, 231 - 241

Literaturverzeichnis

Lu B (2003). BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learning and Memory* 10, 86 - 98

Maisonpierre PC, Belluscio L, Squinto S, Ip NY, Furth ME, Lindsay RM, Yancopoulos GD (1990). Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science* 247, 1446 -1451

Maisonpierre PC, Le Beau MM, Espinosa R 3rd, Ip NY, Belluscio L, de la Monte SM, Squinto S, Furth ME, Yancopoulos GD (1991). Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations. *Genomics* 10, 558 - 568.

Mamounas LA, Altar CA, Blue ME, Kaplan DR, Tessarollo L, Lyons WE (2000). BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *Journal of Neuroscience* 20, 771 – 782

Mandelman SD, Grigorenko EL (2012). BDNF Val66Met and cognition: all, none, or some? A meta-analysis of the genetic association. *Genes, Brain and Behavior* 11, 127 - 136

Markowitsch HJ (2009). Das Gedächtnis. *Beck Verlag, München*, ISBN: 978-3-406-56260-0

McGrath J, Saha S, Welham J, El Saadi O, MacCauley C, Chant D (2004). A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC Medicine* 2, 13

Meisenzahl EM, Seifert D, Scheuerecker J, Burgermeister B, Hampel H, Rupprecht T, Born C, Reiser M, Möller HJ, Frodl T (2010). Differences in hippocampal volume between major depression and schizophrenia: a comparative neuroimaging study. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 260, 127 - 137

Mellor CS (1970). First rank symptoms of schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 117, 15 - 23

Literaturverzeichnis

Meltzer HY (1997). Treatment-resistant schizophrenia – the role of clozapine. *Current Medical Research and Opinion* 14, 1 - 20.

Meyer U, Yee BK, Feldon J (2007). The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times at pregnancy: the earlier the worse. *Schizophrenia Research* 102, 1 – 18

Meyer-Lindenberg AS, Olsen RK, Kohn PD, Brown T, Egan MF, Weinberger DR, Berman KF (2005). Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 62, 379 – 386

Meyer-Lindenberg AS und Weinberger DR (2006). Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience* 7, 818 - 827

Miller GA (1956). The magical number seven plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychological Review* 63, 81 - 97.

Minichiello L, Korte M, Wolfer D, Kuhn R, Unsicker K, Cestari V, Rossi-Arnaud C, Lipp HP, Bonhoeffer T, Klein R. (1999). Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron* 24, 401 - 414.

Mizuno K, Carnahan J, Nawa H (1994). Brain-derived neurotrophic factor promotes differentiation of striatal GABAergic neurons. *Development Biology* 165, 243 – 256

Mizuno M, Yamada K, Olariu A, Nawa H, Nabeshima T (2000). Involvement of brain-derived neurotrophic factor in spatial memory formation and maintenance in a radial arm maze test in rats. *Journal of Neuroscience* 20, 7116 - 7121

Modestin J, Huber A, Satirli E, Malti T, Hell D (2003). Long-Term Course of Schizophrenic Illness: Bleuler's Study Reconsidered. *The American Journal of Psychiatry* 160, 2202 - 2208

Möller HJ, Laux G, Deister A (2009). Duale Reihe: Psychiatrie und Psychotherapie. *Georg Thieme Verlag KG*, 139 - 166

Literaturverzeichnis

Molendijk ML, van Tol MJ, Penninx BWJH, van der Wee NJA, Aleman A, Veltman DJ, Spinhoven P, Elzinga BM (2012). BDNF val⁶⁶met affects hippocampal volume and emotion-related hippocampal memory activity. *Translational Psychiatry* 2, e74

Morgan C, Kirkbride J, Leff J, Craig T, Hutchinson G, McKenzie K, Dazzan P, Doody GA, Jones P, Murray R, Fearon P (2006). Parental separation, loss and psychosis in different ethnic groups: a case-control study. *Schizophrenia Research* 102, 1 - 18

Mortensen PB, Pedersen CB, Westergaard T, Wohlfahrt J, Ewald H, Mors O, Andersen PK, Melbye M (1999). Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *The New England Journal of Medicine* 340, 603 – 608

Muglia P, Vicente AM, Verga M, King N, Macciardi F, Kennedy JL (2003). Association between the BDNF gene and schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 8, 146 - 147

Muragaki Y, Timothy N, Leight S, Hempstead BL, Chao MV, Trojanowski JQ, Lee YM (1995). Expression of trk receptors in the developing and adult human central and peripheral nervous system. *The Journal of Comparative Neurology* 356, 387 – 397

Murer MG, Yan Q, Raisman-Vozari R (2001). Brain derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology* 63, 71 - 124

National Human Genome Research Institute (2011). A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. www.genome.gov/gwastudies 26.11.2011

Nelson MD, Sykin AJ, Flashman LA, Riordan HJ (1998). Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. *Archives of General Psychiatry* 55, 433 – 440

Neves-Pereira M, Cheung JK, Pasdar A, Zhang F, Breen G, Yates P, Sinclair M, Crombie C, Walker N, St Clair DM (2005). BDNF gene is a risk factor for schizophrenia in a Scottish population. *Molecular Psychiatry* 10, 208 - 212

Literaturverzeichnis

Ng MY, Levinson DF, Faraone SV, Suarez BK, Delisi LE, Arinami T, Riley B, Paunio T, Pulver AE, Irmansyah, Holmans PA, Escamilla M, Wildenauer DB, Williams NM, Laurent C, Mowry BJ, Brzustowicz LM, Maziade M, Sklar P, Garver DL, Abecasis GR, Lerer B, Fallin MD, Gurling HM, Gejman PV, Lindholm E, Moises HW, Byerley W, Wijsman EM, Forabosco P, Tsuang MT, Hwu HG, Okazaki Y, Kendler KS, Wormley B, Fanous A, Walsh D, O'Neill FA, Peltonen L, Nestadt G, Lasseter VK, Liang KY, Papadimitriou GM, Dikeos DG, Schwab SG, Owen MJ, O'Donovan MC, Norton N, Hare E, Raventos H, Nicolini H, Albus M, Maier W, Nimgaonkar VL, Terenius L, Mallet J, Jay M, Godard S, Nertney D, Alexander M, Crowe RR, Silverman JM, Bassett AS, Roy MA, Mérette C, Mérette C, Pato CN, Pato MT, Louw Roos J, Mérette C, Kohn Y, Amann-Zalcenstein D, Kalsi G, McQuillin A, Curtis D, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Sanders AR, Duan J, Jazin E, Myles-Worsley M, Karayiorgou M, Lewis CM (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 14, 774 - 785

Nordgaard J, Arnfred SM, Handest P, Parnas J (2008). The Diagnostic Status of First-Rank Symptoms. *Schizophrenia Bulletin* 34, 137–154

Nuechterlein KH, Barch DM, Gold JM, Goldberg TE, Green MF, Heaton RK (2004). Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 72, 29 -39

Numata S, Ueno S, Iga J, Yamauchi K, Hongwei S, Ohta K, Kinouchi S, Shibuya-Tayoshi S, Tayoshi S, Aono M, Kameoka N, Sumitani S, Tomotake M, Taniguchi T, Ishimoto Y, Ohmori T (2006). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism in schizophrenia is associated with age at onset and symptoms. *Neuroscience Letters* 401, 1 - 5

Odegard O (1932). Emigration and insanity: a study of mental disease among the Norwegian-born population of Minnesota. *Acta Psychiatrica et Neurologica Scandinavica* 4, 1 - 206

O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC,

Literaturverzeichnis

Howie B, Leung HT, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Williams NM, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Gejman PV, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Cloninger CR; Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration (2008). Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nature Genetics* 40, 1053 - 1055

Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC (2004) The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Molecular Psychiatry* 9, 14 - 27

Palmer BW, Heaton RK, Paulsen JS, Kuck J, Braff D, Harris MJ, Zisook S, Jeste DV (1997). Is it possible to be schizophrenic yet neuropsychological normal? *Neuropsychology* 11, 437 - 446

Parks J, Svendsen D, Singer P, Foti ME (2006). Report from the National Association of State Mental Health Program Directors (NASMHPD) Medical Directors Council. www.nasmhpd.org

Pedersen CB, Mortensen PB (2001). Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. *Archives of General Psychiatry* 58, 1039 - 1046

Penner JD, Brown AS (2007). Prenatal infections and nutritional factors and risk of schizophrenia. *Schizophrenia Research* 102, 1 - 18

Phillips LJ, McGorry HP, Garner B, Thompson KN, Pantelis C, Wood SJ, Berger G (2006). Stress, the hippocampus and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for the development of psychotic disorders. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry* 40, 725 - 741

Literaturverzeichnis

Poo MM, 2001. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nature Reviews. Neuroscience* 2, 24 - 32

Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T (2007). Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics* 90, 397 - 406

Radziejewski C, Robinson RC, DiStefano PS, Taylor JW (1992). Dimeric structure and conformational stability of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. *Biochemistry* 31, 4431 - 4436

Reynolds GP (2005). The Neurochemistry of Schizophrenia. *Psychiatry* 10, 21 -25

Ribeiro L, Busnello JV, Cantor RM, Whelan F, Whittaker P, Deloukas P, Wong ML, Licinio J (2007). The brain-derived neurotrophic factor rs6265 (Val66Met) polymorphism and depression in Mexican-Americans. *NeuroReport* 18, 1291 – 1293

Rodriguez-Tebar A, Dechant G, Barde YA (1990). Binding of brain-derived neurotrophic factor to the nerve growth factor receptor. *Neuron* 4, 487 - 492

Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI, Schuckit MA, Begleiter H (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 19, 1018 - 1023

Rüdin E (1916). Zur Vererbung und Neuentstehung der Dementia praecox. Studien über Vererbung und Entstehung geistiger Störungen. Handbuch der Erbkrankheiten, Band 2. Schizophrenie. *Springer Verlag, Berlin*

Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Medicine* 2, 413 – 433

Literaturverzeichnis

Saha S, Welham J, Chant D, McGrath J (2006). Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology* 41, 338 - 340

Sawa A, Snyder SH (2002). Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science* 296, 692 - 695

Saykin AJ, Gur RC, Gur RE, Mozley PD, Mozley LH, Resnick SM, Kester DB, Stafiniak P (1991). Neuropsychological function in schizophrenia. Selective impairment in memory and learning. *Archives of General Psychiatry* 48, 618 - 624

Scarr E, Paveya G, Copolov D, Dean B (2004). Hippocampal 5-hydroxytryptamine receptors: Abnormalities in post-mortem brain from schizophrenic subjects. *Schizophrenia Research* 71, 383 - 392

Schenkel LS, Silverstein SM (2004). Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social and behavioural domains. *Genetic, Social, and General Psychology Monographs* 130, 241 - 270

Schneider K (1950). Klinische Psychopathologie. *Georg Thieme Verlag, Stuttgart*

Schosser A, Kindler J, Mossaheb N, Aschauer HN (2006). Genetische Aspekte affektiver Erkrankungen und der Schizophrenie. *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie* 7, 19 - 24

Semple DM, McIntosh AM, Lawrie SM (2005). Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *Journal of Psychopharmacology* 19, 187 - 194

Sendtner M, Holtmann B, Kolbeck R, Thoenen H, Barde YA (1992). Brain-derived neurotrophic factor prevents the death of motoneurons in newborn rats after nerve section. *Nature* 360, 757 - 759

Literaturverzeichnis

Siuciak JA, Lewis DR, Wiegand SJ, Lindsay RM (1997). Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 56, 131 - 137

Skaper SD (2008). The biology of neurotrophins, signalling pathways, and functional peptide mimetics of neurotrophins and their receptors. *CNS & Neurological disorders drug targets* 7, 46 - 62

Shepherd M, Watt D, Falloon IR, Smeeton N (1989). The natural history of schizophrenia: A five-year follow-up study of outcome and prediction in a representative sample of schizophrenics. *Psychological Medicine, Monograph Supplement* 15, 1 - 46

Skibinska M, Hauser J, Czerski PM, Leszczynska-Rodziewicz A, Kosmowska M, Kapelski P, Slopian A, Zakrzewska M, Rybakowski JK (2004). Association analysis of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene Val66Met polymorphism in schizophrenia and bipolar disorder. *The World Journal of Biological Psychiatry* 5, 215 - 220

Smith GS, Schloesser R, Bodie JD, Dewey SL, Logan J, Vitkun SA, Simkowitz P, Hurley A, Cooper T, Volkow ND, Cancro R (1998). Glutamate modulation of dopamine measured in vivo with positron emission tomography (PET) and 11c-raclopride in normal human subjects. *Neuropsychopharmacology* 18, 18 - 25

Squire LR, Knowlton BJ (1995). Memory, hippocampus and brain systems. *MS Gazzaniga (Ed.), The Cognitive Neurosciences*, 825 - 837

Squire LR, Zola-Morgan S (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science* 253, 1380 - 1386

Steen RG, Mull C, McClure R, Hamer RM, Lieberman JA (2006). Volume in first-episode schizophrenia: Systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *The British Journal of Psychiatry* 188, 510 - 518

Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, Werge T, Pietiläinen OHP, Mors M, Mortensen PB, Sigurdsson E, ustafsson O, Nyegaard M, Tuulio-

Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Børghlum AD, Hartmann A, Fink-Jensen A, Nordentoft M, Hougaard D, Norgaard-Pedersen B, Böttcher Y, Olesen J, Breuer R, Möller HJ, Giegling I, Rasmussen HB, Timm S, Mattheisen M, Bitter I, Réthelyi JM, Magnusdottir BB, Sigmundsson T, Olason P, Masson G, Gulcher JR, Haraldsson M, Fossdal R, Thorgeirsson TE, Thorsteinsdottir U, Ruggeri M, Tosato S, Franke B, Strengman E, Kiemenev LA, †Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP), Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Sanjuan J, de Frutos R, Bramon E, Vassos E, Fraser G, Ettinger U, Picchioni M, Walker N, Touloupoulou T, Need AC, Ge D, Yoon JL, Shianna KV, Freimer NB, Cantor RM, Murray R, Kong A, Golimbet V, Carracedo A, Arango C, Costas J, Jönsson EG, Terenius L, Agartz I, Petursson H, Nöthen MM, Rietschel M, Matthews PM, Muglia P, Peltonen L, St Clair D, Goldstein DB, Stefansson K, Collier DA (2009). Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 460, 744 - 747

Suchanek R, Owczarek A, Kowalski J (2012). Association study between BDNF C-281A polymorphism and paranoid schizophrenia in polish population. *Journal of Molecular Neuroscience* 46, 217 - 222

Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of General Psychiatry* 60, 1187 - 1192

Sullivan PF (2008). Schizophrenia genetics: the search for a hard lead. *Current Opinion in Psychiatry* 21, 157 - 160

Sun RF, Zhua YS, Kuanga WJ, Liua Y, Li SB (2011). The G-712A polymorphism of brain-derived neurotrophic factor is associated with major depression but not schizophrenia. *Neuroscience Letters* 489, 34 – 37

Tan YL, Zhou DF, Cao LY, Zou YZ, Wu GY, Zhang XY (2005). Effect of the BDNF Val66Met genotype on episodic memory in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 77, 355 - 356

Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS (2009). Schizophrenia, “just the facts”. Clinical features and conceptualization. *Schizophrenia Research* 110, 1 - 23

Literaturverzeichnis

- Tienari P, Wynne LC, Sorri A, Lahti I, Moring J, Naarala M, Nieminen P, Wahlberg KE (2004). Genotype-environment interaction in schizophrenia spectrum disorder. Long-term follow-up study of Finnish adoptees. *Schizophrenia Research* 102, 1-18
- Thara R (2004). Twenty-year course of schizophrenia: the Madras Longitudinal Study. *Canadian journal of psychiatry* 49, 564 - 569
- Timmusk T, Palm K, Metsis M, Reintam T, Paalme V, Saarma M, Persson H (1993). Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron* 10, 475 -489
- Tsai SJ, Hong CJ, Liu HC, Liu TY, Hsu LE, Lin CH (2004). Association analysis of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphisms with Alzheimer's disease and age of onset. *Neuropsychobiology* 49, 10 - 12
- Wang Y, Sheen VL, Macklis JD (1998). Cortical interneurons upregulate neurotrophins in vivo in response to targeted apoptotic degeneration of neighboring pyramidal neurons. *Experimental Neurology* 154, 389 - 402
- Weinberger DR, Egan MF, Bertolino A, Callicott JH, Mattay VS, Lipska BK, Berman KF, Goldberg TE (2001). Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biological Psychiatry* 50, 825 - 844
- Wetmore C, Olson L, Bean AJ (1994). Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression and release from hippocampal neurons is mediated by non NMDA type glutamate receptors. *The Journal of Neuroscience* 14, 1688 - 1700
- Whalley HC, Baig BJ, Hall J, Job DE, McIntosh AM, Cunningham-Owens DG, Johnstone EC, Lawrie SM (2010). Effects of the BDNF val66met polymorphism on prefrontal brain function in a population at high genetic risk of schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 153B, 1474 - 1482
- Williams NM, O'Donovan MC, Owen MJ (2006). Chromosomal 22 deletion syndrome and schizophrenia. *International Review of Neurobiology* 73, 1 - 27

Literaturverzeichnis

Wittchen HU, Zaudig M, Fydrich T (1997). SKID-I und SKID-II, Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, *Hogrefe Verlag, Göttingen*

Woodruff PW, McManus IC, Davis AS (1995). Meta-analysis of corpus callosum size in schizophrenia. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 58, 457 - 461

Wooley D, Shaw E (1954). A biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 40, 228 – 231

World Health Organization (2011). Programmes and projects. Mental health. Schizophrenia. http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/

Xu B, Gottschalk W, Chow A, Wilson RI, Schnell E, Zang K, Wang D, Nicoll RA, Lu B, Reichardt LF (2000). The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Receptors in the Mature Hippocampus: Modulation of Long-Term Potentiation through a Presynaptic Mechanism involving TrkB. *The Journal of Neuroscience* 20, 6888 – 6897

Yan Q, Elliot J, Snider WD (1992). Brain-derived neurotrophic factor rescues spinal motor neurons from axotomy-induced cell death. *Nature* 360, 753 – 755

Zakharyan R, Boyajyan A, Arakelyan A, Gevorgyan A, Mrazek F, Petrek M (2011). Functional variants of the genes involved in neurodevelopment and susceptibility to schizophrenia in an Armenian population. *Human Immunology* 72, 746 - 748

Zhang R, Valenzuela RK, Lu S, Meng L, Guo T, Du X, Kang W, Ma J (2011). Is the conserved mammalian region of ZNF804A locus associated with schizophrenia? A population-based genetics analysis. *Schizophrenia Research* 133, 159 – 164

Zhang XY, Liang J, Chen DC, Xiu MH, De Yang F, Kosten TA, Kosten TR (2012). Low BDNF is associated with cognitive impairment in chronic patients with schizophrenia. *Psychopharmacology* 222, 277 - 284

Literaturverzeichnis

Zhou DH, Yan QZ, Yan XM, Li CB, Fang H, Zheng YL, Zhang CX, Yao HJ, Chen DC, Xiu MH, Kosten TR, Zhang XY (2010). The study of BDNF Val66Met polymorphism in Chinese schizophrenic patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 34, 930 - 933

Zobel A, Maier W (2004). Endophänotypen – ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Nervenarzt* 75, 205 – 214

Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG (1986). Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience* 6, 2950 – 2967

9 Eidesstattliche Versicherung

Klein, Inna

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Einfluss des Brain-derived neurotrophic factor
auf Schizophrenie und Gedächtnisleistungen“

sebständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 01.04.2013

gez. Inna Klein

10 Danksagung

Mein erster Dank gilt der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München für die Bereitstellung der exzellenten Rahmenbedingungen zur Realisation der vorliegenden Arbeit.

Ich danke ganz herzlich Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu, seinen Mitarbeitern und Doktoranden für die herzliche Aufnahme in ihrem Team und für die jederzeit freundliche und kompetente Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit, die in der Zeit von März 2009 bis Dezember 2012 neben meiner beruflichen Tätigkeit als Fachärztin für Frauenheilkunde und Geburtshilfe entstand. Dies gilt in besonderer Form für Frau PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling, die für mich immer ein offenes Ohr hatte und mir ihre Zeit und ihr herzliches Wesen stets widmete. Herausheben möchte ich auch Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann, Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth und Frau Dr. rer. biol. hum. Marion Friedl, die mich persönlich, fernmündlich oder über elektronische Medien mit Korrekturen, Unterstützung und Motivation ausreichend versorgten.

Selbstverständlich gilt mein Dank auch den vielen freiwilligen Teilnehmern dieser Studie, durch deren Hilfe diese Forschungsarbeit erst möglich wurde.

Meinem Arbeitgeber, Herrn Dr. med. Hans-Joachim Willerding gilt ebenso mein Dank, für die Möglichkeiten der zeitlichen Disposition und die freundliche Unterstützung, die er mir entgegenbrachte.

Zuletzt bedanke ich mich bei meinem Mann, auf dessen Hilfe und Unterstützung ich mich jederzeit und uneingeschränkt verlassen konnte (und weiterhin kann).